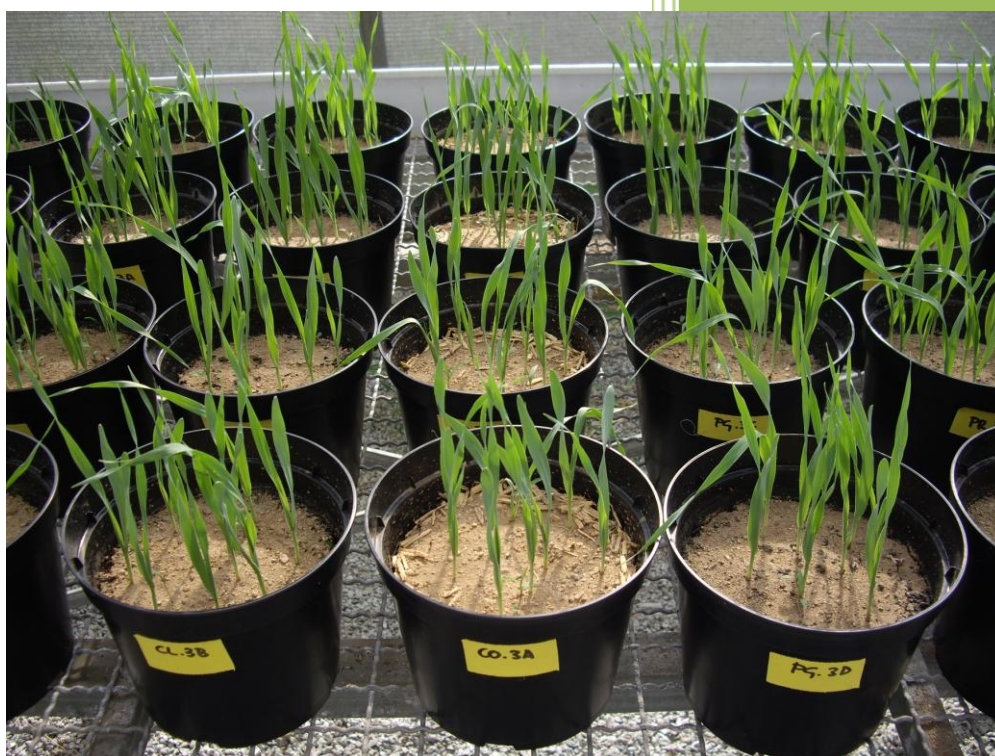


**Proyecto fin de carrera
Licenciatura en Ciencias
Ambientales (2011-2012)**

Evaluación de efectos de varios tipos de biochar en suelo y planta



**Autor:
Daniel Paco Abenza**

**Tutor:
Dr. Josep Maria
Alcañiz Baldellou**

UAB
Universitat Autònoma
de Barcelona



Bellaterra, Junio de 2012

FACULTAT DE CIÈNCIES

Secció de Ciències Ambientals

Evaluación de efectos de varios tipos de biochar en suelo y planta

Memoria del Proyecto fin de carrera Licenciatura en
Ciencias Ambientales, presentado en Bellaterra en Junio de
2012 por:

Daniel Paco Abenza

y dirigido por:

Dr. Josep Maria Alcañiz Baldellou

agradecimientos

a Josep Maria Alcañiz por su labor de tutor, su profesionalidad y rigor a la hora de dirigir un proyecto. Igualmente agradecer en especial a Xavier Domene y Evan Marks por toda la gran ayuda y tiempo prestados, así como sus consejos y propuestas. Agradecer por último al resto de personas: doctores, becarios y estudiantes que forman o han formado parte del grupo de edafología del CREAM, han sido unos buenos meses de formación y experiencias

por otro lado, agradezco y dedico este proyecto a mi familia y amigos, especialmente a mis padres, pues todo el trabajo y experiencias vividas estos cinco años ha sido posible gracias a ellos

Cerdanyola del Vallès, 27 de Junio de 2012

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	Pág.12
1.1. Definición.....	Pág.12
1.2. Historia: de la <i>Terra preta</i> a la <i>Terra nova</i>	Pág.12
1.3. Biochar y cambio climático.....	Pág.14
1.3.1. <i>Biochar y CO₂</i>	Pág.15
1.3.2. <i>Biochar y CH₄</i>	Pág.16
1.3.3. <i>Biochar y N₂O</i>	Pág.16
1.3.4. <i>Otras implicaciones económicas y ambientales</i>	Pág.17
1.4. Efectos sobre suelo y plantas.....	Pág.18
1.5. Producción de biochar.....	Pág.20
1.5.1. <i>Pirólisis lenta</i>	Pág.23
1.5.2. <i>Pirólisis rápida</i>	Pág.24
1.5.3. <i>Gasificación</i>	Pág.24
1.6. Biochar y perspectivas de futuro	Pág.25
1.6.1. <i>Escenario negativo</i>	Pág.27
1.6.2. <i>Escenario positivo</i>	Pág.27
2. JUSTIFICACIÓN.....	Pág.29
3. OBJETIVOS.....	Pág.31
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	Pág.32
4.1. Suelo.....	Pág.32
4.2. Materias primas para la obtención del biochar.....	Pág.33
4.3. Biochar- biocarbón.....	Pág.34
4.4. Fertilizante mineral.....	Pág.35
4.5. Montaje del bioensayo.....	Pág.36
4.6. Semillas.....	Pág.38
4.7. Capacidad de retención de agua, riego y ET.....	Pág.38
4.8. Calendario de muestreos.....	Pág.40
4.9. Análisis de propiedades del suelo.....	Pág.41
4.9.1. <i>Preparación y conservación de las muestras de suelo</i> ...	Pág.41
4.9.2. <i>Densidad aparente</i>	Pág.41
4.9.3. <i>pH y conductividad eléctrica</i>	Pág.41
4.9.4. <i>Carbono oxidable</i>	Pág.41
4.9.5. <i>Sólidos volátiles totales (calcinación a 550°C)</i>	Pág.42
4.9.6. <i>Concentración de cationes y aniones solubles</i>	Pág.42
4.10. Determinaciones en plantas.....	Pág.43
4.10.1. <i>Germinación</i>	Pág.43

4.10.2.	<i>Desarrollo inicial</i>	Pág.43
4.10.2.1.	Longitud de la primera hoja.....	Pág.43
4.10.2.2.	Aclareo y biomasa de plantas extraídas.....	Pág.43
4.10.3.	<i>Biomasa aérea</i>	Pág.44
4.10.4.	<i>Biomasa subterránea y micorrización</i>	Pág.44
4.10.5.	<i>Cuantificación de pigmentos fotosintéticos</i>	Pág.45
4.10.5.1.	Determinación directa de clorofilas por SPAD.....	Pág.45
4.10.5.2.	Concentración de pigmentos.....	Pág.45
4.10.6.	<i>Determinación del estrés fotosintético</i>	Pág.46
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	Pág.47
5.1.	Efectos en el suelo.....	Pág.47
5.1.1.	<i>Densidad aparente</i>	Pág.47
5.1.2.	<i>Capacidad de retención de agua</i>	Pág.48
5.1.3.	<i>pH</i>	Pág.51
5.1.4.	<i>Salinidad</i>	Pág.53
5.1.5.	<i>Concentración de cationes y aniones solubles</i>	Pág.55
5.1.6.	<i>Carbono orgánico oxidable</i>	Pág.59
5.1.7.	<i>Sólidos volátiles totales</i>	Pág.62
5.2.	Evolución hídrica del cultivo.....	Pág.65
5.3.	Efectos en las plantas.....	Pág.69
5.3.1.	<i>Germinación</i>	Pág.69
5.3.2.	<i>Desarrollo inicial</i>	Pág.71
5.3.2.1.	Longitud de la primera hoja.....	Pág.71
5.3.2.2.	Biomasa de plantas aclaradas.....	Pág.72
5.3.3.	<i>Biomasa aérea</i>	Pág.73
5.3.3.1.	Peso seco.....	Pág.73
5.3.3.2.	Producción- cosecha.....	Pág.75
5.3.4.	<i>Sistema radicular</i>	Pág.77
5.3.4.1.	Biomasa de las raíces.....	Pág.77
5.3.4.2.	Relación raíces: parte aérea (root/shoot).....	Pág.80
5.3.4.3.	Biomasa microbiana- micorrización.....	Pág.81
5.3.5.	<i>Pigmentos fotosintéticos</i>	Pág.84
5.3.6.	<i>Estrés fotosintético</i>	Pág.88
5.4.	Discusión general.....	Pág.91
5.5.	Valoración personal y perspectivas de futuro.....	Pág.95
6.	CONCLUSIONES	Pág.98
6.1.	Efectos sobre el suelo.....	Pág.98
6.2.	Efectos del biochar frente a sus materias primas.....	Pág.98
6.3.	Interacción biochar- fertilizante mineral.....	Pág.99
6.4.	Efectos sobre plantas.....	Pág.99

6.5.	Micorrización.....	Pág.99
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	Pág.100
7.1.	Artículos.....	Pág.100
7.2.	Libros.....	Pág.103
7.3.	Otros documentos.....	Pág.103
7.4.	Páginas web.....	Pág.106
8.	ACRÓNIMOS.....	Pág.107
9.	PROGRAMACIÓN.....	Pág.109

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Comparación de perfiles de *terra preta* y suelos adyacentes

Figura 2. Ilustración resumen del ciclo de carbono con y sin la aplicación de biochar en suelos

Figura 3. Algunos efectos del uso del biochar como enmienda orgánica de suelos

Figura 4. Resumen del proceso de pirólisis de biomasa

Figura 5. Aspecto físico de un tipo de biochar y su estructura interna

Figura 6. Grupos regionales inscritos en el IBI que fomentan y dan soporte a la investigación sobre biochar

Figura 7. Posible escenario positivo de la aplicación del biochar

Figura 8. Montaje de macetas en invernadero con mezclas de suelo y enmiendas orgánicas.

Figura 9. Mortero de ágata utilizado para la tritución de muestras de suelo

Figura 10. Carrusel y cromatógrafo utilizado para la determinación de cationes

Figura 11. Cromatógrafo utilizado para la determinación de aniones

Figura 12. Distribución de tamaños de las partículas < 2mm de los materiales pirolizados y originales.

Figura 13. Valores de pH en agua de las diferentes mezclas de suelo ensayadas

Figura 14. Valores de conductividad eléctrica del extracto en agua de las diferentes mezclas de suelo ensayadas

Figura 15. Concentración de carbono orgánico oxidable.

Figura 16. Pérdidas de peso por calcinación a 550°C.

Figura 17. Tasa de evapotranspiración del cultivo de *Hordeum vulgare*. Suelo control y controles con fertilizante mineral

Figura 18. Tasa de evapotranspiración del cultivo de *Hordeum vulgare*. Suelo con enmiendas orgánicas de astillas de pino

Figura 19. Tasa de evapotranspiración del cultivo de *Hordeum vulgare*. Suelo con enmiendas orgánicas de astillas de chopo y lodos de depuradora

Figura 20. Coeficiente de cultivo de la cebada

Figura 21. Evaluación de la germinación de *Hordeum vulgare*

Figura 22. Longitud de la primera hoja

Figura 23. Peso seco de las plantas aclareadas

Figura 24. Peso seco de la biomasa aérea

Figura 25. Desarrollo de plantas de *Hordeum vulgare* durante la cuarta semana de crecimiento.

Figura 26. Peso seco medio de las espigas

Figura 27. Biomasa radicular

Figura 28. Ratio biomasa radicular/biomasa aérea

Figura 29. Colonización por hongos micorrícicos en raíces

Figura 30. Colonización de tejido fúngico sobre raíces

Figura 31. Concentración de pigmentos fotosintéticos en hojas

Figura 32. Relación entre el peso seco de la biomasa aérea y la concentración de pigmentos fotosintéticos

Figura 33. Relación entre el valor SPAD y la concentración de pigmentos fotosintéticos

Figura 34. Relación entre estrés fotosintético y concentración de pigmentos fotosintéticos

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos de pirólisis y transformación de la materia prima inicial en subproductos pirolíticos

Tabla 2. Características analíticas del suelo empleado en el bioensayo con cebada

Tabla 3. Concentración de elementos totales en las maderas y lodos utilizados para la producción de biochar

Tabla 4. Características generales de las diferentes técnicas de pirólisis aplicadas a las biomásas utilizadas para el bioensayo

Tabla 5. Tipos de biochar y biomasa usados en el bioensayo

Tabla 6. Concentración de elementos en los distintos tipos de biochar estudiados

Tabla 7. Identificación de los tratamientos de suelo con enmienda orgánica o sus respectivos biochar con indicación de la dosis de fertilizante NPK y biochar aplicada

Tabla 8. Características del lote de semillas utilizado para la realización del bioensayo

Tabla 9. Capacidad de retención de agua (WHC) de los distintos materiales

Tabla 10. Calendario de muestreos realizados en el bioensayo y estado del cultivo de *Hordeum vulgare*

Tabla 11. Resultados de densidad aparente de las diferentes mezclas de suelo ensayadas

Tabla 12. Valores de máxima capacidad de retención de agua (WHC) de las diferentes mezclas de suelo ensayadas

Tabla 13. Concentración de aniones solubles al inicio del bioensayo en extractos de las diferentes mezclas de suelo ensayadas

Tabla 14. Concentración de aniones solubles al finalizar el bioensayo en extractos de las diferentes mezclas de suelo ensayadas

Tabla 15. Concentración de cationes solubles al inicio del bioensayo en extractos de las diferentes mezclas de suelo ensayadas

Tabla 16. Concentración de cationes solubles al finalizar el bioensayo en extractos de las diferentes mezclas de suelo ensayadas

Tabla 17. Resultados del análisis de carbono reactivo con dicromato potásico y contenido de Sólidos Volátiles Totales de diferentes tipos de biochar y sus respectivas materias primas

Tabla 18. Composición elemental de los biochar y sus materias primas

Tabla 19. Número de granos por espiga de las plantas de cebada

Tabla 20. Composición del grano de cebada maduro e inmaduro

Tabla 21. Valores cualitativos de la presencia de micorrizas y otros hongos en plantas de cebada crecidas de las diferentes mezclas de suelo ensayadas

Tabla 22. Valores del rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (PSII)

Tabla 23. Cuadro resumen de las diferencias significativas encontradas respecto al tratamiento control

Tabla 24. Programación de actividades realizadas durante el bioensayo con plantas de cebada

La siguiente lista de códigos le facilitará una lectura más ágil

O: suelo base sin fertilizante

OL: suelo base con fertilizante mineral (**CONTROL**)

OH: suelo base con dosis doble de fertilizante mineral

PO: astillas de pino sin pirolizar

PG: **biochar** de astillas de pino por gasificación

PL: **biochar** de astillas de pino por pirólisis lenta

PR: **biochar** de astillas de pino por pirólisis rápida

CO: astillas de chopo sin pirolizar

CL: **biochar** de astillas de chopo por pirólisis lenta

CR: **biochar** de astillas de chopo por pirólisis rápida

FO: lodos EDAR sin pirolizar

FL: **biochar** de lodos EDAR por pirólisis lenta

**al final del presente documento se adjunta una hoja desplegable con esta guía de códigos para facilitar la lectura del mismo*

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Definición

La palabra inglesa *biochar* (en castellano el término todavía no reconocido por la RAE sería biocarbón, por lo que de aquí en adelante se ha utilizado el sustantivo en inglés) es un término de reciente aparición y se refiere a un producto de grano fino y poroso similar en apariencia al carbón vegetal. Se produce a partir de la transformación de distintos tipos de biomasa mediante la técnica denominada pirolisis, que consiste en la descomposición térmica de la materia orgánica bajo un aporte de oxígeno limitado. Algunos organismos internacionales que trabajan en la promoción de este material pirogénico, como por ejemplo *The International Biochar Initiative* (IBI), y científicos que trabajan en su estudio como *Lehmann (2009)* proponen en su definición la particularidad de denominar al material pirolizado como *biochar* cuando su destino es la de aplicación como enmienda orgánica de suelos y para el secuestro de carbono en el mismo, siendo estos últimos aspectos de gran importancia, ya que se descarta el uso de biochar como combustible. De esta forma, se destaca su origen biológico y se diferencia del tradicional carbón vegetal (*charcoal*) destinado a combustible.

1.2. Historia: de la *Terra preta* a la *Terra nova*

La investigación y estudio del biochar como enmienda de suelos es reciente. No obstante, en países como Inglaterra o Japón, el uso del carbón vegetal fue tema de investigaciones relacionadas con la agricultura a finales del siglo XIX, así como a lo largo del siglo XX. En Japón, es común el uso del biochar en suelos, así se ha encontrado detallado su uso en viejos textos de agricultura del año 1697, y fue durante la década de los años ochenta cuando se intensificó su investigación (*Lehmann, 2009*).

La base existente detrás del interés originado en los últimos años por la aplicación en suelos de este material pirogénico se debe principalmente a dos hechos: en primer lugar, debido al descubrimiento de partículas similares al carbón en suelos muy fértiles y de alto contenido en carbono del Amazonas en Brasil, denominados localmente como *Terra preta do Índio* (*Lehmann, 2009, Lehmann et al., 2006*), y en segundo lugar, debido a investigaciones publicadas que han demostrado la recalcitrancia¹ de este material frente a otras enmiendas orgánicas y su contribución al incremento de la disponibilidad de nutrientes en el suelo (*Cheng et al., 2008, Sohi et al., 2009*).

¹ Término que se utiliza para indicar materia orgánica muy persistente por su estabilidad o resistencia a los procesos de degradación microbianos o físico-químicos que tienen lugar en el sue

La denominada *Terra preta* es consecuencia de prácticas de manejo de suelos ancestrales (500-2500 años BP) y parecidas al carboneo de leña y otros restos de biomasa, llevadas a cabo por culturas indígenas anteriores a la colonización europea (Petersen et al., 2001). Este tipo de suelos ha sido estudiado a lo largo del siglo XX por su elevada fertilidad en comparación con los *oxisoles* (*ferralsoles* o *suelos lateríticos*) adyacentes (típicos de las zonas tropicales), y por su popularidad entre las poblaciones cercanas debido a la productividad y calidad en cultivos de papaya y mango (Lehmann et al., 2003b). El crecimiento de dichos cultivos es muy rápido, incluso tres veces mayor comparado con cultivos de campos adyacentes fuera de la *terra preta*. Si bien ha habido discusión en cuanto al origen de dichos suelos, actualmente se reconoce que se deben a las prácticas de manejo de las poblaciones indígenas (Lehmann et al., 2003a).

Estos suelos se identifican por el color negro de su perfil edáfico (figura 1) y contienen altos niveles de materia orgánica y nutrientes como N, P, K y Ca. Estas características se atribuyen en parte a su elevado contenido en carbón. Se han encontrado concentraciones de 150 gC/kg de suelo frente a 20-30 gC/kg de suelo en suelos adyacentes (Glaser et al., 2001). La fuente de la elevada concentración de carbono se considera que son los restos de biomasa procedente de una combustión incompleta que se añade al suelo. Esta hipótesis se ha demostrado a partir de la similitud entre las partículas encontradas en estos suelos con las de biochar. A su vez, se han encontrado perfiles orgánicos de entre 1 a 2 metros de profundidad, lo cual ha sugerido la hipótesis de su utilidad como almacenamiento de carbono estable, demostrable debido al período de tiempo pasado entre el abandono de este tipo de manejo de estos suelos y su descubrimiento a finales del siglo pasado.



Figura 1. Comparación de perfiles de *terra preta* (derecha) y suelos adyacentes (izquierda). Fuente: web de la *International Biochar Initiative* (IBI).

Se han localizado rodales de terreno con dichos suelos de aproximadamente 20 ha, no obstante también se han caracterizado zonas de hasta 350 ha (Smith, 1999). No solamente se han encontrado suelos de estas características

en Brasil, sino también en Ecuador y Perú y en zonas de la sabana surafricana (Lehmann, 2003a).

El fenómeno de la *Terra preta* ha tenido un fuerte impacto en el campo de la ciencia del suelo, lo que se ha traducido en numerosas publicaciones científicas, pero también en el público en general por medio de diversas páginas web (Lehmann, 2009). El interés potencial de la *terra preta* como modelo de uso para subproductos de procesos bioenergéticos que se basan en la pirólisis ha tenido amplia difusión (Lehmann, 2007; Baskin, 2006). De esta manera y en el contexto actual de cambio climático, ha surgido la posibilidad de desarrollo de *antrosols* (suelos muy modificados por la intervención humana) para almacenamiento de carbono denominados como *Terra nova* (sumideros de CO₂), y como mejora de suelos agrícolas en base a la utilidad del biochar como enmienda orgánica, a través de modernas técnicas de manejo similares a las que originaron la *Terra preta do Indio*.

1.3. Biochar y cambio climático

La geoingeniería es la ciencia que trata de mitigar las alteraciones antropogénicas que podrían afectar el clima terrestre, reduciendo los efectos del denominado calentamiento global. En la actualidad, la existencia de un cambio climático debido a la acción industrial humana es un hecho objeto de estudio por parte de la ciencia en el que la reducción de emisiones antropogénicas de gases de efecto invernadero, como el CO₂, CH₄ o N₂O, se ha convertido en uno de los aspectos centrales de la sostenibilidad y de la producción de energía en las sociedades más desarrolladas. En este contexto, se ha denominado a la combinación de la pirólisis de biomasa y la aplicación del biochar obtenido en suelos, como un tipo de tecnología carbono-negativa (Sohi et al., 2009), a diferencia de otras técnicas bioenergéticas como la combustión completa de biomasa que son consideradas carbono-neutrales, ya que en el proceso de pirólisis de la biomasa aproximadamente de un 20 a un 50% del carbono inicial queda fijado en forma de biochar (figura 2).

De manera natural, debido a la acción de los microorganismos la biomasa que llega al suelo se acaba descomponiendo liberando CO₂ y otros gases de efecto invernadero a la atmósfera, excepto una pequeña parte que se transforma en humus. La producción y uso del biochar incide en el ciclo del carbono, retirando una parte de la biomasa para uso energético y convirtiéndolo en un almacén de este elemento atendiendo a la supuesta estabilidad del carbono en forma de biochar y a la recalcitrancia de este material.

La gestión y uso sostenible del biochar en países subdesarrollados se concibe como una posibilidad de luchar contra la deforestación, pasando de técnicas agrarias de quemas y plantación al denominado “agríchar”, que sería la agricultura que implementa el biochar como enmienda. De esta forma se lucharía contra la pérdida de suelo forestal tropical, mejorando su fertilidad y evitando su empobrecimiento (Lehmann et al., 17th WCSS, Baskin, 2006).

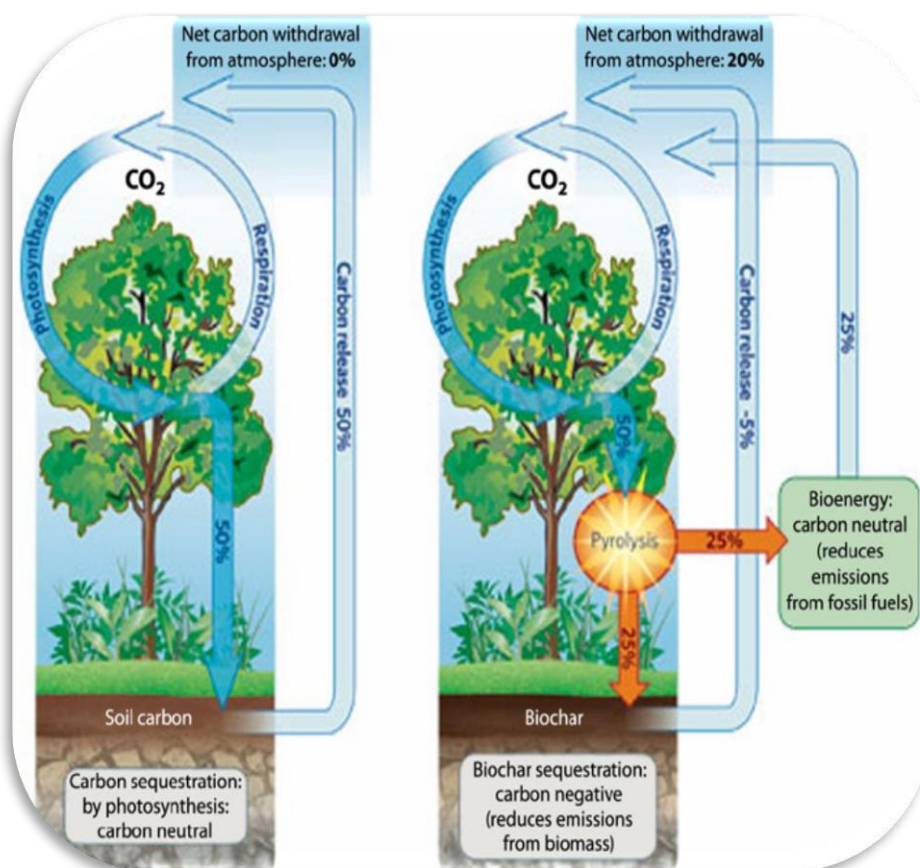


Figura 2. Ilustración que resume el ciclo del carbono con y sin la aplicación de biochar en suelos. Fuente: web de la Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO).

1.3.1. Biochar y CO₂

Existen trabajos que estiman el límite de reducción de emisiones de CO₂ que cabría esperar bajo técnicas de producción de biochar sostenibles, las cuales consideran que en la actualidad, la actividad humana es la responsable de la apropiación de 16 Gt C/año de biomasa de la biosfera, es decir, un 22% de la NPP (*Net Primary Productivity*). Aumentar esta proporción supondría una presión excesiva sobre los agro-ecosistemas y una situación insostenible (Woolf et al., 2010). Dicho trabajo denomina este límite como “potencial técnico máximo sostenible”, el cual representa el máximo de biomasa que puede ser cosechada sosteniblemente, es decir, sin amenazar la seguridad alimentaria de determinados países, los hábitats naturales y la conservación de suelos. La

fracción máxima de la NPP destinada a la producción de biochar debería ajustarse de acuerdo con factores socioeconómicos y leyes que incentivasen la lucha contra el cambio climático. Con la producción y aplicación del biochar al suelo se ha calculado (*Woolf et al., 2010*) que se podría llegar a reducir en un 12% las emisiones anuales de C-CO₂ equivalentes (1,8 Pg CO₂-Ceq/año de los 15,4 Pg CO₂-Ceq emitidos anualmente). El potencial relativo de mitigación del biochar y de la bioenergía en general, es aproximadamente 4 veces superior al que se obtendría si la biomasa fuese quemada únicamente con fines energéticos.

Otros estudios sugieren lo siguiente: globalmente existen aproximadamente unas 15·10⁹ ha de cultivos (*Ramankutty, 2008*), por lo que la aplicación del biochar una vez cada 10 años a esta superficie resultaría en una captura de CO₂ equivalente de aproximadamente 0,65 GtC/año (*Gaunt, 2008*).

A su vez, teniendo en cuenta la mejora en el crecimiento y desarrollo de los cultivos, el uso de biochar como enmienda orgánica del suelo supondría una mayor captura de CO₂ debida al incremento de la fotosíntesis.

1.3.2. Biochar y CH₄

El potencial de efecto invernadero del metano (GWP) es de 21, lo cual significa que una tonelada de CH₄ tiene igual potencial de absorción de radiación que 21 toneladas de CO₂ (*IPCC, 2007b*). A su vez se considera que contribuye aproximadamente con un 20% al forzamiento radiativo antropogénico (*Johnson et al., 2007*). Aproximadamente un 80% de las emisiones de este gas se producen de manera natural desde la biosfera por la acción de descomposición anaeróbica bacteriana y por la propia vida animal. Agricultura y ganadería suponen un importante factor en las emisiones de este gas a la atmósfera (*Johnson et al., 2007*). En estudios de producción y aplicación de biochar en suelos se ha observado reducción en las emisiones de metano (*Woolf et al., 2010*), ya que por un lado mediante la pirólisis previa se evitan las emisiones provocadas por la descomposición de la biomasa, lo cual puede ser especialmente importante en cultivos como el de arroz (*Singh et al., 2008*), y por otra parte, la aplicación del biochar en suelos favorece la oxidación de este gas. También se ha observado que el biochar afecta a propiedades físicas y químicas del suelo que condicionan la liberación de este y otros gases de efecto invernadero, como por ejemplo la formación de agregados (*Van Zwieten et al. 2009*).

1.3.3. Biochar y N₂O

El GWP del N₂O es de 310 (*IPCC, 2007b*). La emisión natural desde el suelo se produce a través de las rutas metabólicas bacterianas de la nitrificación y

denitrificación que suponen un 65% de las emisiones de este gas (*Johnson et al., 2007*). La aplicación de fertilizantes nitrogenados en la agricultura industrial supone un *input* de nitrógeno en el suelo que ha aumentado las emisiones de N₂O a la atmósfera, aparte de otros impactos como el de la contaminación de acuíferos por lixiviación. De igual modo que en el caso del metano, la producción y aplicación del biochar en el suelo reduce las emisiones de N₂O por la estabilidad de la biomasa pirolizada y, por tanto, la reducción de emisiones por descomposición de la misma y por los efectos directos de la aplicación del biochar sobre el suelo (*Woolf et al., 2010, Rondon et al., 2005, Zhang et al., 2010, 2011*).

1.3.4. Otras implicaciones económicas y ambientales

El secuestro de carbono atmosférico es el principal factor para considerar la aplicación del biochar al suelo dentro de un contexto de mitigación de los efectos del cambio climático. La legislación relacionada con la emisión de gases de efecto invernadero (mercado de emisiones) debería tener en cuenta el potencial de las estrategias basadas en la aplicación de biochar en suelos, dentro del contexto de cambio climático, para así elaborar protocolos que garanticen el desarrollo y uso de esta tecnología, es decir, su inversión (*web biocharprotocol, Sohi et al., 2009*).

En un análisis generalizado, el coste económico de maximizar la retención de carbono en forma de biochar usando técnicas de pirólisis lenta, debería compensarse con la posibilidad de ganancias netas en forma de reducción de emisiones de CO₂ equivalentes mediante su aplicación al suelo. Se ha estimado que la pirólisis podría ser rentable por la combinación de objetivos de secuestro de carbono y producción de energía si el coste de una tonelada de CO₂ alcanzase los 37 \$ en el actual comercio de créditos de carbono (*Lehmann, 2007*).

Por otra parte, la defensa del uso del biochar en suelos carecería de sentido si no se realiza de una manera sostenible, como por ejemplo si no se certifica el origen sostenible de la biomasa obtenida sin producirse cambios de uso del suelo que impliquen deforestación y plantaciones masivas para el cultivo de biomasa destinada a pirolizar, que a su vez generarían problemas de alimentación en poblaciones, y de erosión y pérdida de funcionalidad de suelos, así como la no utilización de productos de origen no natural para la producción del biochar. También se destaca la importancia de la producción de biochar con tecnología adecuada y moderna que asegure la no liberación de gases de efecto invernadero u otras sustancias como hollín que pueden ser nocivas para la salud (*Woolf et al., 2010*).

Estos estudios también hacen referencia al escaso conocimiento acerca de la posible presencia de dioxinas e hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) en las partículas de biochar. También es destacable la cuestión acerca de la reducción del albedo en los suelos enmendados con biochar (suelos más negros), si bien sería contrarrestada por el mayor desarrollo de la cubierta vegetal. No parece preocupante este aspecto, pero da una idea del tipo de estudios que se están realizando sobre este material, lo que sugiere que se analicen con detalle sus efectos en el sistema suelo-biosfera-atmósfera para garantizar un uso sostenible.

1.4. Efectos sobre suelo y plantas

En este aspecto, la bibliografía contiene numerosas publicaciones acerca de los posibles efectos de la aplicación del biochar sobre el ecosistema edáfico (figura 3). No obstante, el grado de conocimiento es muy reciente y a menudo los resultados son muy variables y dependientes del tipo de estudio (Sohi *et al.*, 2009).

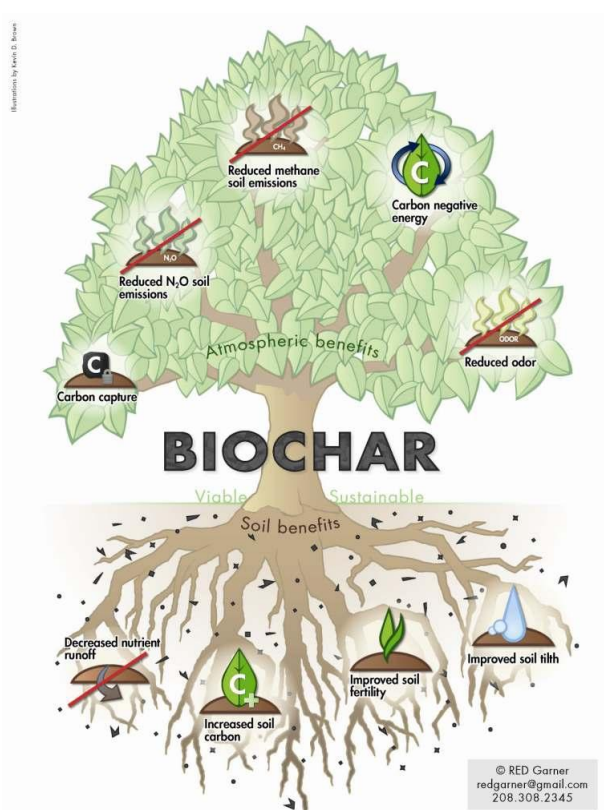


Figura 3. Ilustración de algunos efectos del uso del biochar como enmienda orgánica de suelos. Fuente: web del IBI.

Una de las ventajas del uso del biochar como enmienda del suelo es que el C puede ser almacenado durante cientos de años, dada la estabilidad del biochar, mejorando el crecimiento de las plantas y el secuestro de carbono en

el suelo (*Lehmann et al., 2006*). No obstante, se ha encontrado que existe otra fracción del biochar que no sería estable a largo plazo (*Sohi et al., 2009*), de este modo se ha sugerido que el biochar estaría formado por componentes estables y otros que en cambio, serían degradables. Faltan estudios que investiguen acerca de la estabilidad del biochar a corto y largo plazo bajo suelos y climas diferentes. Las condiciones de combustión, así como las características de la materia prima utilizada en la producción de biochar, serían los aspectos que determinarían la proporción de componentes relativamente lábiles en el biochar, sin olvidar los objetivos principales que se planteen para el proceso de pirólisis: obtención de energía o biochar, ya que también influiría sobre la estabilidad del biochar producido al ser éste de diferentes características en función del tipo de pirólisis (*Sohi et al., 2009*).

Otros aspectos estudiados son el aumento de la disponibilidad de nutrientes para las plantas en parte por la mejora de la capacidad de intercambio catiónico en el suelo (CIC), así como la estimulación de los procesos biológicos que permiten mejorar la estructura del suelo y la capacidad de almacenamiento de agua (*Fowles, 2007, Glaser et al., 2000*). Dichos estudios también hablan de la capacidad de este material para reducir la lixiviación y la escorrentía superficial, aumentar el pH del suelo, así como la absorción de pesticidas y metales pesados (*Major, 2010*).

Atendiendo al efecto de enmienda orgánica que produce la aplicación del biochar en suelos, la reducción en la densidad aparente y el aumento de materia orgánica permitirían reducir el laboreo mecánico. Además, también se reducirían costes en irrigación debido al aumento en la capacidad de retención de agua. En este sentido, *Glaser (2002)* encontró en suelos de *terra preta* una capacidad de retención de agua superior en un 18% en comparación a los suelos adyacentes.

Por lo general, el biochar aumenta la productividad y calidad del suelo, sobre todo en suelos ácidos y pobres en nutrientes, como por ejemplo los oxisoles. En la revisión de *Sohi y colaboradores (2009)* se muestran 13 estudios de diferentes autores en los que se obtienen incrementos de productividad en los diferentes cultivos realizados. Tres son los mecanismos propuestos que tratan de explicar cómo el biochar permite aumentar la producción en cosechas: (i) por la modificación directa de la química del suelo debido a la composición del biochar, (ii) el biochar está formado por superficies químicamente activas que permiten modificar la dinámica de los nutrientes en el suelo o bien catalizan reacciones útiles para la obtención de un suelo fértil, (iii) modifica físicamente el suelo de manera que beneficia el crecimiento de las raíces y aumenta la retención de agua y nutrientes (*Sohi et al., 2009*).

En cuanto a beneficios en la producción y requerimiento de nutrientes, se ha encontrado que el biochar permite obtener igual rendimiento de cosecha con una dosis más baja de fertilización que aquellos cultivos en los cuales se aplica la dosis óptima de fertilización (*Sohi et al., 2009*). Se ha sugerido que el objetivo de aplicación de biochar en suelos de cultivos no sería tanto para aumentar la producción, sino más bien para asegurar un equilibrio de las cosechas, frente a eventos climáticos como por ejemplo sequías. *Lehmann y Rondon* (2006) encontraron incrementos en la absorción por plantas de P, K, Ca, Zn y Cu en cultivos tropicales en los cuales se había aplicado biochar. La naturaleza y el mecanismo básico que explique las interacciones entre cosecha, tipo de suelo, tipo de materia prima para la producción de biochar, método de pirólisis y dosis de aplicación tiene que ser ampliamente estudiado para ganar capacidad de predicción en la aplicación de biochar en suelos, y así abrir la posibilidad de aplicación a escalas más amplias.

Por otra parte, la interacción del biochar con los fertilizantes, así como los efectos sobre la biota del suelo y sus implicaciones sobre la ecología del mismo son factores todavía poco conocidos y en este sentido, la investigación de los efectos de la aplicación del biochar en suelos es reciente (*Lehmann et al., 2011*). Las investigaciones al respecto están orientadas al estudio de la estructura física del biochar y las interacciones con microorganismos, como las micorrizas, si bien se ha encontrado variabilidad en los resultados. Algunos estudios han encontrado incrementos de la actividad microbiana en suelos enriquecidos con biochar (*Steiner et al., 2008*). Dichos estudios hacen referencia a la capacidad del biochar, debido a su estructura en microporos, para permitir el establecimiento de colonias microbianas. No obstante, se ha discutido que la biomasa microbiana no es una buena medida de la actividad de la misma, lo cual genera incertidumbre en la valoración de los efectos del biochar, debido a la falta de conocimiento en cuanto a que tipo de comunidad microbiana puede verse favorecida, y lo que es más importante, el tipo de actividad que puedan realizar en el ecosistema edáfico.

1.5. Producción de biochar

Actualmente, debido al desarrollo tecnológico de la industria bioenergética que incluye, además de la combustión, la pirólisis y la gasificación de la biomasa, es posible obtener tres productos resultantes de estos procesos: gas de síntesis (*syngas*), bioaceite² y un residuo sólido rico en carbono, el biochar (*García, 2010*). La producción de biochar tiene su origen en la combustión incompleta o parcialmente anaeróbica (pirólisis) de cualquier tipo de biomasa natural (figura 4).

² En realidad se debería traducir como biopetróleo ya que el término procede de la traducción del sustantivo en inglés *biooil*. Otra posibilidad es traducir el término como bioóleo por analogía con gasóleo o biocombustibles (*biofuel*).

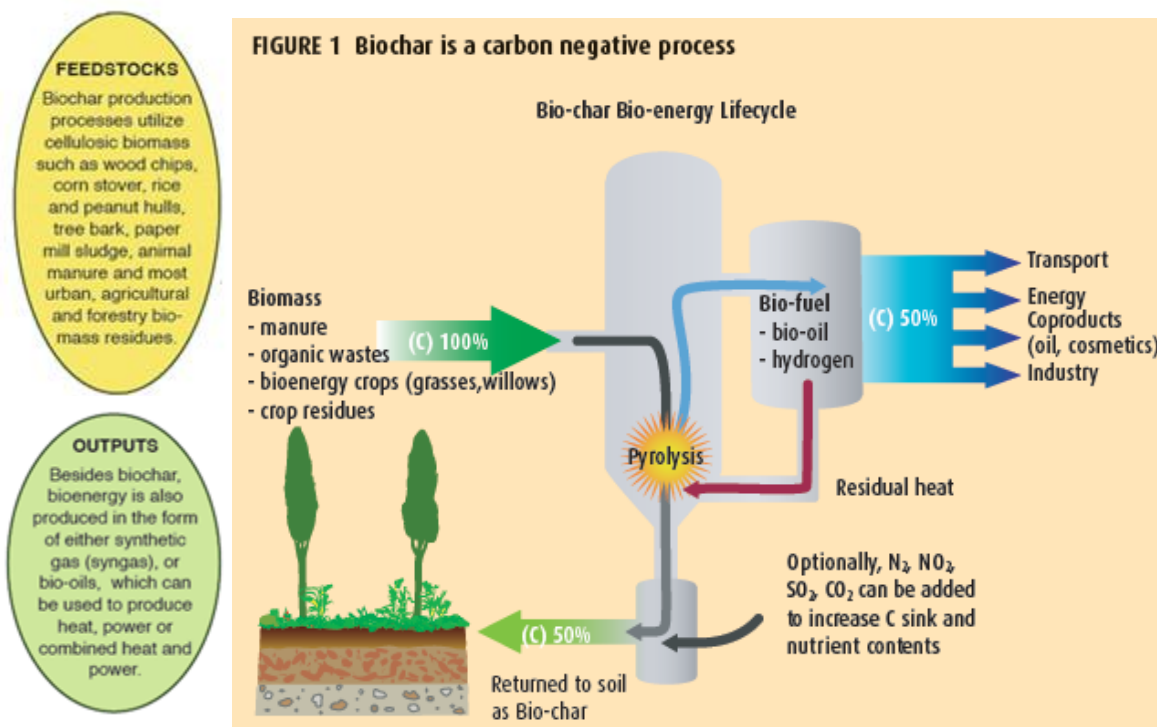


Figura 4. Ilustración-resumen del proceso de pirólisis de biomasa. Fuente: *farming ahead magazine* (2009).

Este tipo de combustión parcial ha sido utilizado de manera tradicional en España (artigueo, rozas, carboneras) para la obtención de cenizas, biomasa carbonizada y carbón vegetal que se utilizaban como abono de cultivos y fuente de energía (Mazoyer y Roudard, 1998, Major 2010 review).

Actualmente, la industria destinada a la producción de gas sintético (*syngas*) y biocombustibles, que utiliza como materia prima biomasa natural, son las principales actividades productoras de biochar. A menudo, se desecha el biochar producido, pero atendiendo a lo visto en los anteriores capítulos y debido a la actual investigación científica, la salida de este material podría llegar a ser totalmente distinta. Japón tiene el mercado más desarrollado en los subproductos de la pirolisis, pues aproximadamente 15000 t/año de biochar son comercializadas para usos en el suelo (Okimori, 2003).

En España, existen algunas industrias ligadas a su producción y venta en el campo de la bioenergía como por ejemplo IKERLAN o Grupo Guascor en el País Vasco o la empresa catalana Terra Fosca Biochar.

La pirolisis industrial es un proceso de combustión parcial parecido al que se ha realizado de manera artesanal en nuestros bosques en las denominadas carboneras. La biomasa inicial utilizada, así como las características técnicas de la pirolisis influyen en las propiedades físicas, químicas y biológicas del biochar producido y en su potencial uso en agricultura, así como en los resultados de secuestro de carbono (Sohi et al., 2009). Centrándonos en la

técnica de pirólisis, la temperatura y el tiempo de residencia del material son las principales variables que se tienen en cuenta y que caracterizan los distintos tipos de pirólisis; a su vez, cada técnica de pirólisis se caracteriza por un balance de masa distinto de los productos resultantes (tabla 1).

Tabla 1. Tipos de pirólisis y transformación de la materia prima inicial en subproductos pirolíticos. Fuente: *Sohi et al., 2009*.

Proceso	Temperatura de pirólisis	Tiempo de residencia	Líquido (bioóleo)	Sólido (biochar)	Gas (syngas)
Pirólisis rápida	Moderada (~500°C)	Corto (<2s)	75% (25% agua)	12%	13%
Pirólisis lenta	Baja- moderada (450- 650°C)	Largo	30% (70% agua)	35%	35%
Gasificación	Elevada (<800°C)	Largo	5% (5% agua)	10%	85%

El proceso, que inicialmente necesita de energía externa para alcanzar la temperatura de pirólisis, puede ser retroalimentado posteriormente mediante el uso de los recursos energéticos producidos. La ratio de producción de cada subproducto puede variar entre diferentes industrias productoras y puede ser optimizada en una instalación particular en función de los objetivos de uso o de mercado. Se debe tener en cuenta que maximizar la producción de biochar para enfocarla a estrategias de mitigación de gases de efecto invernadero implicaría una reducción de la obtención de energías en la forma líquida o gaseosa (*Demirbas, 2006*), lo cual podría afectar a la capacidad de retroalimentación del proceso. No obstante, el balance final depende en última instancia del mercado y de las restricciones técnicas (*Gaunt, 2008*).

La biomasa utilizada para el proceso de pirólisis puede tener diferentes orígenes, siendo la agricultura, ganadería, sector forestal y residuos municipales los más habituales. De esta manera, restos de poda, biomasa procedente de diferentes cultivos, residuos diversos de actividades ganaderas y lodos de depuradora pueden ser materiales a pirolizar. En el futuro la materia prima debería elegirse en función de la ratio de subproductos deseados y la técnica de pirólisis a utilizar. En el caso de priorizar la obtención de biochar, el material de partida condiciona alguna de sus características como el contenido de macro y micronutrientes, la estructura física, la capacidad de retención de agua, etc., lo cual es de suma importancia para los efectos que el biochar puede tener al ser aplicado como enmienda de suelos (*Sohi et al., 2009*).

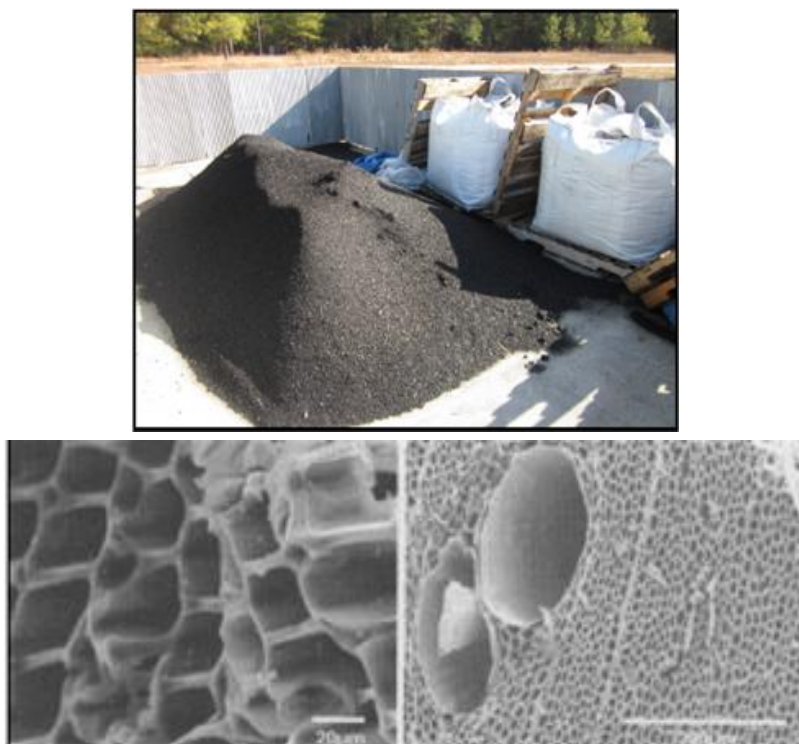


Figura 5. Aspecto físico de un tipo de biochar y su microestructura interna. Arriba: Biochar producido a partir de restos de poda de pino. Abajo: detalle de la microestructura interna porosa del biochar. Fuente: *Julie Major (Apalachian sustainable development)*

Existen diferentes tipos de procesos pirolíticos industriales. A continuación se explica resumidamente las tres técnicas principales. No obstante, es conveniente comentar la existencia de múltiples variantes como la carbonización o la pirólisis intermedia, o el uso de técnicas combinadas dentro de un mismo proceso como sería la pirólisis lenta con gasificación.

1.5.1. Pirólisis lenta

La pirólisis lenta, comparable a la que se ha utilizado durante siglos en las carboneras de nuestros bosques, se basa en la combustión parcial de la biomasa por calentamiento uniforme y lento (aproximadamente $0,01-2^{\circ}\text{C}/\text{seg}$) a temperaturas entre 450 y 650°C , y prácticamente sin oxígeno, con la captura simultánea de los gases producidos para la obtención de syngas, transformando aproximadamente un 40% de la biomasa original en biochar. Para la producción de este tipo de biochar se precisa de tiempos de residencia de horas a días.

La reacción pirolítica es medianamente endotérmica, siendo la mayor parte de energía capturada en forma de syngas y condensados de bioaceite. El biochar

tiene una energía residual de aproximadamente 30-35 MJ/kg (García, 2010). La energía extraída del proceso puede utilizarse para retroalimentar el mismo o para el secado de la materia prima. También puede quemarse el syngas generado para generar calor o electricidad.

1.5.2. Pirólisis rápida

Se caracteriza por un calentamiento muy rápido de la materia prima lo cual conlleva a una mayor producción de bioaceite en comparación con la producción de biochar. De esta forma, a diferencia de la pirólisis lenta, el tiempo necesario para alcanzar el pico de temperatura del proceso endotérmico (tiempo de residencia) es de aproximadamente uno o dos segundos, siendo de minutos a horas el de la pirólisis lenta (tabla1). Esta técnica opera a temperaturas relativamente moderadas (450°C) mediante la introducción de pequeñas cantidades de biomasa en la cámara de pirólisis, extrayendo los gases de forma casi instantánea y condensándolos, para producir aproximadamente un 65% de líquidos biocombustibles, cuyo contenido de energía por unidad de volumen es casi la mitad que el del gasoil. Este biocombustible se considera ventajoso a diferencia de otros, derivados del petróleo, por sus nulas o bajas emisiones de óxidos de azufre y de nitrógeno en su combustión (Bridgewater, 2004). La producción de biochar es de aproximadamente un 15% y tiene una energía residual de 23-32 MJ/Kg (Demirbas, 2006).

1.5.3. Gasificación

Es el proceso por el cual una materia prima rica en carbono (carbón, petróleo o biomasa) es mayoritariamente convertida en un flujo de CO e H₂ a altas temperaturas y en un ambiente oxigenado controlado, a veces a altas presiones de entre 15-50 bares. Esta técnica similar a la pirólisis, presenta dos diferencias respecto a ésta: en primer lugar se somete a la materia prima a temperaturas significativamente mayores (entre 800 y 1300°C) y, en segundo, no hay ausencia de oxígeno, sino un suministro pequeño y controlado de él (García, 2010).

El principal producto es el syngas (mezcla de CO e H₂), el cual puede ser usado para generación de electricidad u otros fines energéticos. El residuo en forma de biochar tiende a ser muy bajo, finamente particulado, y a menudo contiene altos niveles de metales y minerales que pueden estar en altas concentraciones por lo que se parece a las cenizas. Por otro lado, tiene un

elevado poder calorífico en comparación con el biochar procedente de las otras dos técnicas, por ello es utilizado para la producción de carbono activo.

El proceso industrial de gasificación ha sido usado en todo el mundo durante más de 50 años principalmente en los sectores de refinería de crudos, fertilizantes y otras industrias químicas, así como en la industria de generación eléctrica desde hace más de 35 años.

1.6. Biochar y perspectivas de futuro

Actualmente la tecnología de pirólisis está bastante desarrollada y es suficientemente precisa bajo objetivos industriales de producción de syngas y bioaceite. Sin embargo, la explotación comercial y la existencia de una industria estable con unos objetivos concretos de producción de biochar están en sus inicios. Ello se debe principalmente a dos motivos, por un lado la necesidad de una mayor investigación en el uso de este material pirogénico como enmienda de suelos, que permita disponer de una base científica que justifique técnicas concretas de pirólisis a partir de distintos materiales iniciales de cara a la obtención de productos específicos que aseguren una aplicación estudiada y justificada. Por otro lado la falta de políticas favorables que permitan el establecimiento de un mercado que dé salida a este producto, como pudiera ser el establecimiento de cuotas más altas en el comercio de CO₂, perjudica a las técnicas de geoingeniería carbono-negativas reconocidas científicamente como herramientas capaces de contribuir a equilibrar e intervenir en cuestiones relacionadas con el cambio climático. En este sentido países como EEUU o Australia trabajan actualmente en la creación de legislaciones favorables, y organismos como el IBI han centrado sus esfuerzos en una futura Convención Marco de las Naciones Unidas para el Cambio Climático (UNFCCC), en la que se pueda reconocer al biochar como una herramienta útil y necesaria en la lucha contra el cambio climático mediante su promoción en los mercados con los argumentos de beneficios ambientales que puede aportar.

La mayoría de proyectos existentes en la actualidad son de ámbito local y no tienen un impacto significativo en el presupuesto global de carbono. La figura 6 muestra la distribución de los grupos regionales que fomentan y dan soporte a la investigación y creación de proyectos a nivel local, generando publicaciones y ayudando a la promoción del uso del biochar.

Por otra parte, grupos ecologistas y otras asociaciones de varios países han firmado un acuerdo de rechazo a la promoción y comercialización del biochar bajo el título: *Biochar: una nueva amenaza para los pueblos, la tierra y los ecosistemas*, basándose en la variabilidad de los resultados científicos obtenidos acerca de los beneficios ambientales del uso del biochar, poniendo

en duda su defensa como herramienta útil frente al cambio climático. También critican la posibilidad de desarrollo de una industria que desvirtúe el objetivo inicial del biochar debido a sus actividades lucrativas comerciales que fomenten la deforestación y la exclusión social en zonas de países en desarrollo, como ocurrió en la década pasada con el fomento de plantaciones para el desarrollo de biocombustibles.

Este último aspecto podría ser cierto en el contexto de que la producción de biochar alcanzase una importancia relevante en el comercio de créditos de carbono dentro del mercado de emisiones de CO₂ pues la ambición y avaricia humana han demostrado a lo largo de la historia de lo que es capaz de hacer.

Sin embargo, el estudio y aplicación del biochar no se debería descartar por el temor a una industria interesada y sin ideales que no sean los meramente económicos, sino que debería ser una “herramienta” sostenible que podría ser útil en agricultura, restauración de suelos y otros usos técnicos, además de su aprovechamiento como tecnología carbono-negativa en un contexto de prudencia y sentido común en la lucha contra el cambio climático.



Figura 6. Grupos regionales inscritos en el IBI que fomentan y dan soporte a la investigación sobre el biochar. Fuente: web del IBI.

De acuerdo a lo anteriormente comentado, se podría plantear dos posibles escenarios futuros (*ver apartado 1.6.1*).

1.6.1. Escenario negativo

La producción y aplicación de biochar en suelos se convierte exclusivamente en un negocio lucrativo fomentado por las políticas internacionales de lucha contra el cambio climático global y la libre financiación sin control que llevaría a una producción insostenible de este material.

Empresas privadas, operarían en países subdesarrollados sin ningún tipo de restricción, amparadas por la legislación y fomentadas por las cuotas de mercado de carbono, lo que podría generar la deforestación de zonas boscosas y el desplazamiento de población local, con la posibilidad de importantes afecciones sobre el medio ambiente.

1.6.2. Escenario positivo

Empresas privadas, asistidas por centros de investigación públicos y privados, hallarían el mejor método para producir biochar a partir de los restos de cosechas, de animales, residuos urbanos y los procedentes de la gestión sostenible de bosques y otras plantaciones ya existentes. Una estrategia basada en el biochar sería una combinación particular de materias primas, tecnologías de pirólisis, conversión de energía y aplicación del material sobre los suelos en base a unos objetivos ambientales y de producción coordinados.

El estudio profundo de la aplicación del biochar como enmienda orgánica permitiría su posible uso en la restauración y recuperación de suelos degradados, o simplemente la aplicación puntual en un suelo con unas características definidas y bajo unos objetivos de enmienda establecidos. También se propone el uso de este material como soporte de inóculos de hongos y otros microorganismos que favorezcan el desarrollo de micorrizas o la lucha biológica contra plagas en plantas, o para mejorar el proceso de compostaje, así como aplicaciones en césped deportivo (*Lehman et al., 2011, Major, 2010*).

El aprovechamiento y la gestión de la biomasa natural se produciría de manera local (figura 5). Idealmente, los ciudadanos de cualquier parte del mundo que gestionaran granjas y jardines (ornamentales o agrarios) de cualquier tamaño, podrían convertirse en productores de biochar a pequeña escala, lo que contribuiría de modo local al secuestro de carbono y al enriquecimiento del suelo. A su vez, el uso en países desarrollados permitiría ayudar en problemas como la escasez de alimentos, así como mantener la población rural. Ejemplo de ello son los proyectos llevados a cabo en países de África central, donde el uso del biochar producido con la ayuda de unidades de pirólisis móviles pretende trabajar sobre los objetivos de reducir la deforestación, mantener una

producción de alimentos, proporcionar energía renovable y contribuir al secuestro de carbono (*BiocharFund*).

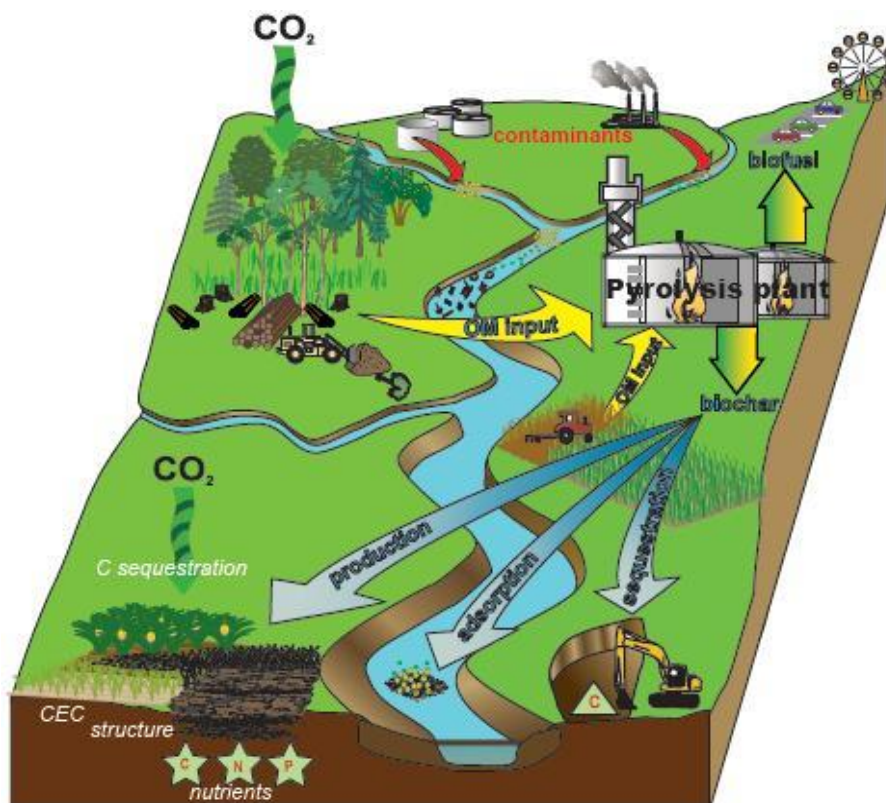


Figura 7. Posible escenario positivo de aplicación del biochar. Fuente: web del CSIRO

2. JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo forma parte de la asignatura Proyecto de Final de Carrera, establecida como obligatoria en el plan de estudios (Cód. 23847) para la obtención del título de Licenciado en Ciencias Ambientales por la Universidad Autónoma de Barcelona, y en este caso tiene las características de trabajo de iniciación a la investigación. Se enmarca dentro del proyecto de investigación “Materia orgánica pirogénica como fuente de carbono estable en suelos y su relación con la ecotoxicidad – SOCARRAT (*Sequestering Organic CARbon, Recalcitrance And Toxicity*), ref. AGL2009-12343” llevado a cabo por profesores del Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología, adscritos al Centre de Recerca Ecològica i Aplicacions Forestals (CREAF).

Los compromisos derivados del Protocolo de Kyoto inducirán el desarrollo de tecnologías carbono- negativas para secuestrar CO₂, entre las que se encuentra el aprovechamiento energético de la biomasa mediante pirólisis. El biochar resultante debe ser objeto de investigación antes de la extensión de su uso en los suelos.

Este trabajo pretende aportar resultados en la línea de estudio acerca del comportamiento del biochar aplicado sobre el suelo. Es importante ya que se estudian los efectos de la aplicación, considerando las interacciones entre un tipo de cultivo, tipo de suelo, tipo de materia prima para la producción de biochar, método de pirólisis y dosis de aplicación. El trabajo realizado se justifica por la necesidad científica de ganar capacidad de predicción en la aplicación de biochar en suelos, y así abrir la posibilidad de uso a escalas más amplias.

La realización de este trabajo me ha permitido poner en práctica una de las principales competencias de la licenciatura en ciencias ambientales, la multidisciplinariedad, ya que el estudio de la producción y aplicación del biochar en suelos está relacionado con varios aspectos de la carrera como son: legislación medioambiental, sostenibilidad y cambio climático, ingeniería ambiental, edafología, fisiología vegetal, sociología, etc. En la realización del mismo, he obtenido una buena idea de la capacidad de análisis y desarrollo de múltiples tareas que debe tener un ambientólogo en su labor profesional, pues en el estudio del biochar existen multitud de factores relacionados que se deben de tener en cuenta. Todo ello, queda enfocado bajo la realización de un trabajo de inicio a la investigación, profundizando en el análisis crítico, así como en los conceptos y metodología que caracterizan este tipo de estudios. En este sentido, este trabajo me ha permitido entrar en contacto con el método científico a través de la realización de un bioensayo, así como poner en práctica

alguna de las metodologías básicas de estudios de laboratorio. Quiero destacar también que el estudio del biochar permite la aproximación al mundo tecnológico y empresarial asociado a su producción, factores ligados a la ingeniería ambiental.

Los principales beneficiarios de este proyecto podrían ser las personas interesadas en aprender sobre el tema estudiado a modo divulgativo o de información acerca del uso y aplicación del biochar. También se puede dirigir a personas que evalúan diferentes trabajos para resumir y exponer el conocimiento científico acerca del biochar, ya que este proyecto final de carrera aporta datos que suman otro grano de arena al conocimiento científico de la aplicación de este material en suelos.

3. OBJETIVOS

Este proyecto ha sido realizado con el **objetivo general** de evaluar los efectos más relevantes de varios tipos de biochar sobre un suelo y una planta de interés agrícola. Para ello, se han formulado los siguientes **objetivos específicos**:

- Estudiar los efectos de diferentes tipos de biochar, incorporados a un suelo como enmienda orgánica, sobre plantas de cebada (*Hordeum vulgare*) mediante el análisis de la germinación, crecimiento y otras respuestas biológicas.
- Analizar comparativamente los efectos de la aplicación de biochar y su materia prima sin pirolizar sobre el crecimiento del cultivo.
- Analizar el efecto del biochar sobre algunos parámetros fisicoquímicos del suelo que pueden influir a su vez sobre el desarrollo de las plantas.
- Estudiar la interacción del biochar con el fertilizante mineral convencional aplicado en el bioensayo con *Hordeum vulgare*.
- Explorar la posible existencia de micorrizas en el cultivo para su posterior caracterización.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Suelo

El material edáfico de partida procede de los campos experimentales del Centro de Investigación en Tecnología Agroalimentaria (IRTA) situados en la finca Torre Marimón en el municipio de Caldes de Montbui. Corresponde a una mezcla de la capa arable del suelo de la finca (horizonte Ap) que se clasifica como *Haploxerept típico* (*Soil Taxonomy, 2010*). A continuación se presentan las características fisicoquímicas analizadas:

Tabla 2. Características analíticas del suelo empleado en el bioensayo con cebada. Fuente: ApplusS.A. Elaboración propia.

Parámetro	Unidades	Valor
Humedad 105 °C	%	1,67
Elementos gruesos (5-2 mm)	%	5,7
Arena total (0,05 < D < 2 mm)	%	59,6
Limos gruesos (0,02 < D < 0,05 mm)	%	10,5
Limos finos (0,002 < D < 0,02 mm)	%	12,5
Arcillas (D < 0,002 mm)	%	17,4
Clase textural USDA	-	Franco-arenosa
Carbonatos	g·kg ⁻¹	60
Materia orgánica (Walkley-Black)	g·kg ⁻¹	16
N (Kjeldahl)	g·kg ⁻¹	0,8
pH (1:2,5 agua)	-	8,3
Conductividad eléctrica 25 °C (1:5)	dS·m ⁻¹	0,21
Na (ext. acetato amónico)	mg·kg ⁻¹	62
K (ext. acetato amónico)	mg·kg ⁻¹	159
Mg (ext. acetato amónico)	mg·kg ⁻¹	233
Ca (ext. acetato amónico)	mg·kg ⁻¹	5.557
P (Olsen)	mg·kg ⁻¹	27
Cd (ext. ácida)	mg·kg ⁻¹	0,1
Cr (ext. ácida)	mg·kg ⁻¹	10
Cu (ext. ácida)	mg·kg ⁻¹	17
Zn (ext. ácida)	mg·kg ⁻¹	65
Pb (ext. ácida)	mg·kg ⁻¹	25
Ni (ext. ácida)	mg·kg ⁻¹	7
Hg (ext. ácida)	µg·kg ⁻¹	16

El contenido de humedad y los elementos gruesos se refieren a la muestra original; el resto de análisis se refieren a la fracción <2 mm.

Se cribaron aproximadamente unos 240 L de tierra mediante un tamiz de 5 mm de malla. Posteriormente, se trasladó la tierra a un invernadero de los campos experimentales de la UAB en el cual se realizó el montaje y la plantación. Se procedió a extender la tierra para facilitar su secado al aire, aspecto previo importante para la incorporación de las enmiendas orgánicas.

4.2. Materias primas para la obtención del biochar

Para este bioensayo, se han utilizado 3 tipos de biomasa diferentes que potencialmente se podrían incorporar a los suelos: astillas de madera de resinosas (pino), astillas de árboles caducifolios (chopo) y un lodo de depuradora urbana secado térmicamente. Las materias primas de pino y de chopo fueron suministradas en forma de astillas por la planta de gasificación de biomasa del grupo GUASCOR en Jundiz (Álava). El chopo (*Populus nigra*) procedía de Garnica Plywood (Fuenmayor, La Rioja) y la astilla de pino es una mezcla de *Pinus radiata (insignis)* y de *Pinus marítima* de plantaciones cercanas. El lodo de depuradora se obtuvo de la EDAR de El Prat del Llobregat (Barcelona), después de una digestión anaeróbica y secado térmico. La siguiente tabla muestra la composición en elementos de las diferentes materias primas.

Tabla 3. Concentración de elementos totales en las maderas y lodo utilizados para la producción de los biochar (media \pm desviación estándar). Elaboración propia. Fuente: unidad de análisis de metales (UB), Sáenz (2010). La proporción de oxígeno se ha calculado por diferencia, por lo que está sobrevalorada al incluir otros elementos minerales.

Elemento	Unidades	Astilla de pino (PO)	Astilla de chopo (CO)	Lodo de EDAR (FO)
C	g·kg ⁻¹	47,5 \pm 0,02	45,5 \pm 0,01	26,9 \pm 0,05
O	g·kg ⁻¹	45,5 \pm 0,05	47,5 \pm 0,05	67,5 \pm 0,06
H	g·kg ⁻¹	5,9 \pm 0,03	5,7 \pm 0,04	4,5 \pm 0,1
N	g·kg ⁻¹	<0,2	0,4 \pm 0,01	4,2 \pm 0,1
S	g·kg ⁻¹	<0,2	<0,2	1,3 \pm 0,03
C:N	-	238	106	6,4
Na	mg·kg ⁻¹	<70	168 \pm 13	1.722 \pm 133
K	mg·kg ⁻¹	680 \pm 106	1.415 \pm 110	4.084 \pm 1.008
Mg	mg·kg ⁻¹	157 \pm 1	243 \pm 3	5.475 \pm 48
Ca	mg·kg ⁻¹	672 \pm 2	1.668 \pm 1	41.424 \pm 57
P	mg·kg ⁻¹	<70	86 \pm 2	24.096 \pm 86
Fe	mg·kg ⁻¹	42,8 \pm 0,5	31 \pm 3	19.963 \pm 14
Zn	mg·kg ⁻¹	8,1 \pm 0,3	5,9 \pm 0,2	1.416 \pm 9
Cd	mg·kg ⁻¹	0,08 \pm 0,01	0,1 \pm 0,01	1,2 \pm 0,02
Cr	mg·kg ⁻¹	0,1 \pm 0,05	0,9 \pm 0,1	188 \pm 1
Cu	mg·kg ⁻¹	0,1 \pm 0,02	1,26 \pm 0,01	378 \pm 3
Ni	mg·kg ⁻¹	0,5 \pm 0,1	0,45 \pm 0,20	122 \pm 2
As	mg·kg ⁻¹	<0,15	<0,15	7,5 \pm 0,2
Pb	mg·kg ⁻¹	<0,1	<0,1	137 \pm 1
Hg	μg·kg ⁻¹	1,45 \pm 0,46	<0,15	1,3 \pm 0,02

4.3. Biochar- biocarbón

El biochar procede de tres plantas de pirólisis que funcionan con tres procedimientos de valorización energética de la biomasa muy diferenciados.

La siguiente tabla muestra las características generales de los diferentes tipos de procesos empleados:

Tabla 4. Características generales de las diferentes técnicas de pirólisis aplicadas a las biomásas utilizadas para el bioensayo. Fuente: Sáenz, D. (2010).

Tipo de pirólisis	Rango de T ^a (°C)	Tiempo	Tamaño de partícula original (mm)	Rendimiento (Kg Biochar/ Kg biomasa)
Rápida	Pino: 440-480 Chopo: 430-510	2 seg	<6	Pino (0,11) Chopo (0,20)
Lenta	500-550	15 min	≤65	Pino (0,27) Chopo (0,29) Lodo (0,48)
Gasificación	600-900	75 min	≤50	Pino (0,05)

Los biochar de pirólisis lenta fueron suministrados por el Grupo de Ingeniería Química y Ambiental del Instituto de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Biodiversidad de la Universidad de León.

Los biochar de pirólisis rápida se obtuvieron de la planta de IKERLAN en Mondragón (Guipúzcoa).

Los biochar de gasificación provinieron de la planta del Centro de Investigación en gasificación de biomasa del Grupo Guascor en Júndiz (Álava).

Las siguientes tablas muestran los diferentes tipos de biochar y los códigos de identificación utilizados (tabla 5), y también su composición en elementos (tabla 6):

Tabla 5. Tipos de biomasa y de pirólisis usados para obtener los biochar utilizados en el bioensayo, con los códigos de identificación.

Material	Tratamiento	Tipo de pirólisis
Astillas de resinosas, pino (P)	PO	Sin pirolizar (O)
	PL	Lenta (L)
	PR	Rápida (R)
	PG	Gasificación(G)
Astillas de caducifolios, chopo (C)	CO	Sin pirolizar (O)
	CL	Lenta (L)
	CR	Rápida (R)
Lodos de EDAR secados térmicamente (F)	FO	Sin pirolizar (O)
	FL	Lenta (L)

Tabla 6. Concentración (media \pm desviación estándar) de elementos (C, H, N y S por análisis elemental; el resto solubles en agua regia) en los distintos tipos de biochar estudiados. Ver códigos en la tabla 5. Elaboración propia. Fuente: unidad de análisis de metales (UB), Sáenz (2010).

Elemento	Unidades	PL	PR	PG	CL	CR	FL
C	g·kg ⁻¹	86,2 \pm 0,2	71,7 \pm 0,05	71,0 \pm 0,2	81,0 \pm 0,1	73,1 \pm 0,1	22,3 \pm 0,03
O	g·kg ⁻¹	23,9 \pm 0,2	23,9 \pm 0,01	27,4 \pm 0,2	15,9 \pm 0,1	22,6 \pm 0,1	75,8 \pm 0,1
H	g·kg ⁻¹	1,9 \pm 0,02	3,4 \pm 0,05	0,5 \pm 0,02	2,1 \pm 0,02	3,3 \pm 0,03	0,8 \pm 0,07
N	g·kg ⁻¹	<0,2	<0,2	0,2 \pm 0,02	0,6 \pm 0,0	0,5 \pm 0,03	2,5 \pm 0,01
S	g·kg ⁻¹	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	1,20 \pm 0,02
C:N	-	431	330	355	137	359	9
Na	mg·kg ⁻¹	329 \pm 48	476 \pm 9	778 \pm 3	956 \pm 75	1.029 \pm 18	3.843 \pm 165
K	mg·kg ⁻¹	3.484 \pm 121	6.404 \pm 220	8.249 \pm 291	6.570 \pm 229	9.207 \pm 381	9.092 \pm 598
Mg	mg·kg ⁻¹	980 \pm 36	1.420 \pm 9	2.591 \pm 58	1.313 \pm 28	1.594 \pm 38	11.827 \pm 571
Ca	mg·kg ⁻¹	3.769 \pm 138	8.273 \pm 24	92.343 \pm 3.654	9.573 \pm 232	12.184 \pm 86	89.107 \pm 4.341
P	mg·kg ⁻¹	3.505 \pm 91	476 \pm 69	796 \pm 113	1.956 \pm 222	565 \pm 10	51.192 \pm 3.273
Fe	mg·kg ⁻¹	1.213 \pm 18	1.577 \pm 83	85	1.966 \pm 126	1.784 \pm 46	42.649 \pm 2.930
Zn	mg·kg ⁻¹	92 y 318 *	181 \pm 7	982 y 1.504 *	140 \pm 18	540 \pm 7	3.074 \pm 156
Cd	mg·kg ⁻¹	-	-	1,20 \pm 0,01	-	-	2,20 \pm 0,26
Cr	mg·kg ⁻¹	83 \pm 21	26,2 \pm 0,3	26 \pm 2	213 \pm 36	40 \pm 1	385 \pm 50
Cu	mg·kg ⁻¹	35 y 446 *	12,0 \pm 0,3	224 \pm 5	728 y 95 *	29 \pm 2	767 \pm 87
Ni	mg·kg ⁻¹	97,3 \pm 0,1	24,5 \pm 0,3	10 \pm 2	253 \pm 22	23 \pm 1	249 \pm 28
As	mg·kg ⁻¹	-	-	-	-	-	12 \pm 1
Pb	mg·kg ⁻¹	16 \pm 1	10,1 \pm 0,1	9,1 \pm 0,04	75 \pm 14	62 \pm 1	277 \pm 34

(*) Indica muestra no homogénea en este elemento. Un guión indica concentración del elemento por debajo del límite de cuantificación. La proporción de oxígeno se ha calculado por diferencia, por lo que está sobrevalorada al incluir otros elementos minerales.

La incorporación de los distintos tipos de biochar o de sus materiales de partida al suelo de referencia se realizó en una dosis equivalente al 1% de C, es decir, de manera que el carbono total incorporado constituyese una adición de 10gC/Kg tierra. Para ello se pesó por separado la cantidad necesaria de cada enmienda para preparar 24 kg de mezcla con suelo seco (tabla 7).

4.4. Fertilizante mineral

El fertilizante empleado consistió en una mezcla NPK preparada en el laboratorio que se realizó en base a la dosis de nitrógeno recomendada para un cultivo de cebada, la cual es de 100 Kg N/ha en una mezcla 18:5:5 de NPK respectivamente, que es la proporción idónea cuando no hay fertilización complementaria con estiércol. Para esta proporción de elementos y teniendo en cuenta la dosis de N recomendada, se puede deducir que son necesarios 27,8 kg P·ha⁻¹, igualmente para el K. Los reactivos para preparar el abono compuesto fueron:

- Superfosfato de cal 18% Polvo P_2O_5 , AgroMediterráneo, Fuentes Fertilizantes SL, Totana (Murcia)
- Cloruro potásico KCl 95,2%, Fertilizantes Gombau SL, Sant Carles de la Ràpita.
- Sulfato amónico $(NH_4)_2SO_4$ 21%, Fertilizantes Gombau SL, Sant Carles de la Ràpita.

Para el cálculo de la dosis a aplicar en el bioensayo se tuvo en cuenta que la densidad aparente (Da) del suelo era de $1,3 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ y se asumió una profundidad de la capa arable de 0,2 m. Con esos datos se calculó la cantidad de superfosfato (3,3 g), cloruro potásico (0,5 g) y sulfato amónico (20,7 g) necesarios para incorporar a 24 kg de suelo. Esta cantidad supone un régimen de fertilización del 100% de las necesidades teóricas de nitrógeno.

Sin embargo, para los objetivos del experimento solamente se adaptó a este régimen de fertilización un tratamiento control (OH). Para el resto de tratamientos se optó por aportar tan solo el 50% de las necesidades de nitrógeno, a excepción de un tratamiento control sin fertilizante (O). La siguiente tabla indica los códigos de cada tratamiento y el régimen de fertilización aplicado.

Tabla 7. Identificación de los tratamientos de suelo con enmienda orgánica o sus respectivos biochars con indicación de la dosis de fertilizante NPK y biochar aplicada.

Tratamiento	Código	Fertilización (kg N·ha ⁻¹)	Fertilizante NPK (g)	Enmienda o biochar (g)
Control dosis doble fertilizante	OH	100	24,51	0
Control con fertilizante	OL	50	12,26	0
Suelo control	O	50	0	0
Suelo con astillas de pino	P0	50	12,26	475,7
Suelo con biochar de pino por pirólisis lenta	PL	50	12,26	262,4
Suelo con biochar de pino por pirólisis rápida	PR	50	12,26	394,5
Suelo con biochar de pino por gasificación	PG	50	12,26	318,7
Suelo con astillas de chopo	C0	50	12,26	497,4
Suelo con biochar de chopo por pirólisis lenta	CL	50	12,26	279,2
Suelo con biochar de chopo por pirólisis rápida	CR	50	12,26	343,9
Suelo con lodo de depuradora	F0	50	12,26	838,8
Suelo con biochar de lodo por pirólisis lenta	FL	50	12,26	1.013,1

4.5. Montaje del bioensayo

El bioensayo comenzó con el montaje previo a la siembra, el cual se realizó la primera semana de Mayo de 2011 en uno de los invernaderos pertenecientes a los campos experimentales de la UAB.

Se prepararon 192 tiestos de 2 L de capacidad para poder realizar ocho réplicas y dos muestreos para cada uno de los 12 tratamientos. La cantidad de suelo de referencia necesaria por tratamiento (24 Kg) fue corregida en base a la humedad existente en dicho suelo el día del montaje.

El procedimiento de montaje fue el siguiente: primeramente se pesó la cantidad de suelo necesaria por tratamiento y se introdujo en un bidón de plástico de 50 litros. A continuación se añadió al bidón la cantidad de enmienda correspondiente a cada tratamiento. De igual manera se procedió a añadir la cantidad exacta de fertilizante preparada anteriormente en botes. De cara a conseguir una mezcla homogénea se volteó el bidón repetidas veces. Finalmente se colocó 1,5 Kg de la mezcla a cada uno de los 16 tiestos empleados por tratamiento, anotando el peso seco y su tara. Los tiestos de cada tratamiento se distribuyeron al azar y se colocaron sobre mesas metálicas de un invernadero con cubierta de plástico (figura 8).

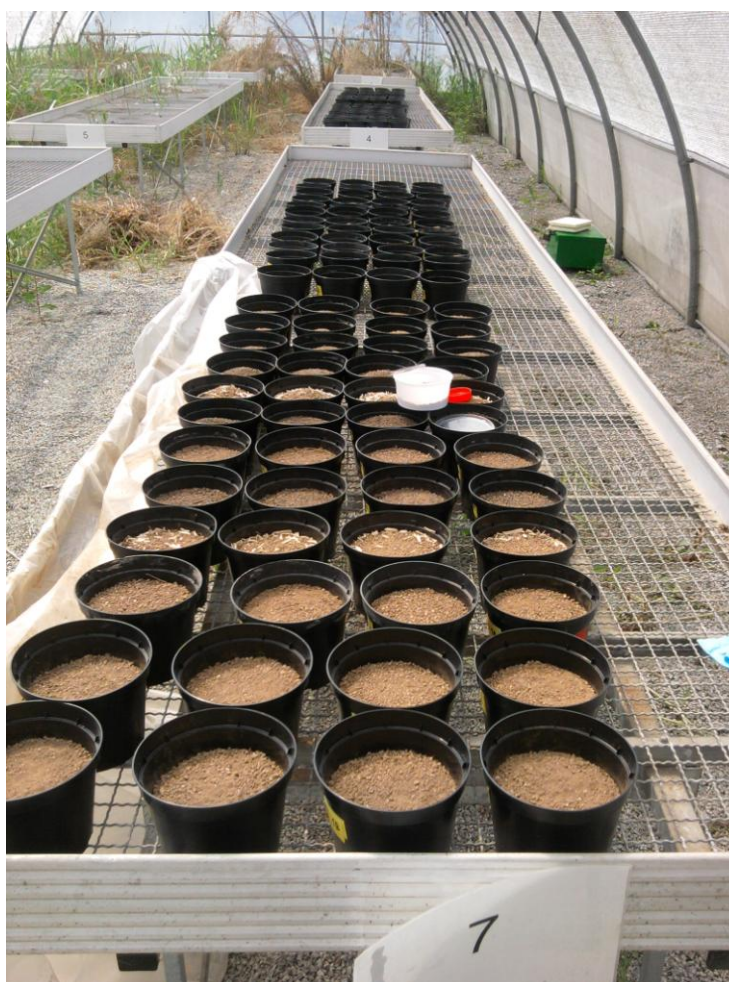


Figura 8. Montaje de macetas en el invernadero con mezclas de suelo y biochar o sus materias primas, para la realización de un bioensayo con plantas de *Hordeum vulgare*.

4.6. Semillas

Para la evaluación de los efectos del biochar sobre plantas, se consideró que sería más adecuado un posible escenario de uso de este material como enmienda orgánica de suelos agrícolas, por lo que se seleccionó una especie vegetal cultivada. Se eligió la cebada (*Hordeum vulgare*), cereal ampliamente cultivado en España, con cerca de 2.815.000 Ha, según datos del Dpto. de medio ambiente del gobierno de Aragón (*Informaciones técnicas, 2011*) para la campaña 2010-2011. Las características del lote de semilla certificada que se utilizó son las siguientes.

Tabla 8. Características del lote de semillas utilizado para la realización del bioensayo.

Especie	<i>Hordeum vulgare</i>
Nombre común	cebada
Variedad	Graphic (de ciclo corto)
Pureza	98%
Germinabilidad	85% mínimo
Categoría	R-1
Lote	59410/ GRAGO11
Marca	RAET
Procedencia	Palencia/Valladolid
Fungicida	Maneb

Las semillas permanecieron almacenadas a una temperatura de 4°C hasta el momento de la siembra (la cual se hizo la segunda semana de Mayo de 2011). Se realizó una supervisión de las semillas para descartar las defectuosas.

Se plantaron 10 semillas/tiempo, que equivalen a una densidad de siembra de 468 plantas/m², con lo cual se usaron un total de 1920 semillas. Las semillas se colocaron manualmente en los tiestos a una profundidad de siembra de aproximadamente el doble del tamaño de la semilla para evitar la emergencia en los primeros riegos. Esta densidad de semillas se utilizó para la evaluación de la germinación y la longitud del cotiledón. Posteriormente, se aclaró la densidad de plantación a la mitad, es decir, 5 plántulas/tiempo.

4.7. Capacidad de retención de agua, riego y evapotranspiración

El establecimiento de un sistema de riego controlado que aportase la cantidad de agua precisa a cada tiesto es uno de los factores clave que se tuvo en cuenta en el seguimiento de la plantación, pues por la época del año, a pesar de utilizar un cereal de secano, es importante cubrir las necesidades hídricas de la cebada, especialmente en las primeras fases de desarrollo. Por otro lado,

un riego excesivo no controlado podría provocar condiciones reductoras en el suelo o bien una lixiviación ocasional de elementos que podrían influir en la determinación de algunos parámetros que posteriormente se estudiaron como el pH o la conductividad del suelo.

Los primeros riegos se realizaron en función a la capacidad de retención de agua del suelo (WHC) calculada para cada uno de los materiales en experimentos previos (tabla 9).

Tabla 9. Capacidad de retención de agua (WHC) de los distintos materiales aplicados al suelo calculada por gravimetría. Ver códigos en tabla 7. Estos valores nos permiten saber los gramos de agua retenidos por cada 100 gramos de suelo y así poder controlar el riego por peso

Tratamiento	WHC (%)
OH	44,2
OL	44,2
O	44,2
PO	46,0
PG	51,5
PL	48,6
PR	51,4
CO	46,0
CL	51,2
CR	56,5
FO	48,0
FL	49,6

El valor de OH, OL y O es una media de los valores que se obtuvieron en el suelo control. Los valores para los materiales sin pirolizar se obtuvieron a partir de las mezclas con suelo realizadas.

El riego se realizó individualmente por pesada de cada tiesto utilizando una balanza de precisión +/-1 g, y colocando un plato para recoger eventuales lixiviados. Se empleó un vaso agujereado por la base para simular una lluvia y así disminuir el poder erosivo del agua al regar, al mismo tiempo que se facilita un drenaje más lento y así una mayor absorción del agua.

La cantidad de agua aportada se ajustó en función de las primeras observaciones de aparición de lixiviados. Así pues, el primer día se regó al 80% del agua equivalente a la WHC, pero después de observarse procesos de lixiviación en algunos de los tratamientos que indicaban cálculos sobreestimados, se decidió reducir la dosis de agua y regar al 60% de dicha capacidad. De esta manera se pensó en la importancia de la aireación del suelo la no existencia de condiciones reductoras, así como se tuvo en cuenta la resistencia de la cebada frente a la sequía.

El seguimiento del contenido hídrico del suelo en la plantación es clave ya que puede aportar datos acerca sobre la evolución del crecimiento y desarrollo de

las plantas en función de los distintos tratamientos, por ejemplo mediante la medida del agua evaporada en un momento determinado o el cálculo de la tasa de evapotranspiración (ET). La tasa de ET se calculó en las 9 semanas de cultivo mediante la diferencia de peso de cada una de las réplicas en períodos de tiempo de aproximadamente 72 horas. Asimismo, las observaciones propias durante el riego son interesantes, ya que muestran diferencias entre tratamientos en cuanto a la existencia de lixiviaciones ocasionales, velocidad de infiltración del agua en el suelo, y así poder relacionar esto último con la formación de charcos que extrapolados al contexto natural favorecen la escorrentía y por tanto la erosión.

4.8. Calendario de muestreos

El período de desarrollo de la plantación de cebada en invernadero fue de aproximadamente 3 meses (Mayo a Julio de 2011). A fin de alcanzar los objetivos planteados, se decidió realizar un par de muestreos destructivos. Se seleccionaron para cada muestreo la mitad de las réplicas de cada tratamiento. En sendos muestreos se evaluaron in situ y en laboratorio algunos de los efectos sobre suelos y plantas. El otro proceso realizado fue la preparación y almacenaje de las muestras vegetales y de suelo a utilizar en los futuros análisis de laboratorio.

La siguiente tabla muestra las fechas del experimento y el estado de desarrollo del cultivo:

Tabla 10. Calendario de muestreos realizados en el bioensayo y estado del cultivo de *Hordeum vulgare*. El período del bioensayo fue de Mayo a Julio de 2011.

Estado del cultivo	Muestreo	Fecha
Siembra	-	05/05/2011
Germinación completa	Control final de germinación (15 d)	20/05/2011
Desarrollo de la 3ª hoja	Aclareo (21 d)	26/05/2011
Inicio del encañado previo al espigado	1er muestreo plantas y suelo (42 d)	16/06/2011
Inicios de agostamiento, cosecha	2º muestreo plantas y suelo (72 d)	13/07/2011

4.9. Análisis de propiedades del suelo

4.9.1. Preparación y conservación de las muestras de suelo

Las muestras de suelo iniciales, y las procedentes del primer y segundo muestreo (42 y 72 días respectivamente), después de haber separado las raíces por tamizado, se guardaron en bolsas de plástico y se anotó su peso fresco. A continuación se extendieron sobre papeles de filtro para su secado al aire durante una semana. Una parte del suelo tamizado se guardó en botes de plástico, anotando su peso fresco, y se congeló a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posteriores análisis.

4.9.2. Densidad aparente

Se calculó pesando el suelo y cubicando el volumen ocupado por éste en cada tiesto. Para calcular el volumen se llenó el tiesto con agua hasta un nivel equivalente al ocupado por el suelo, pesando la cantidad de agua añadida. La densidad se calculó refiriendo la masa de suelo a peso seco equivalente.

4.9.3. pH y conductividad eléctrica

Se pesaron 20 g de suelo tamizado a 2 mm en un bote de 100 ml. La determinación del pH se realizó en una suspensión suelo:agua 1:2,5 (p/v), y posteriormente en el mismo recipiente se añadieron 50 mL de agua para la medida de la conductividad eléctrica en un extracto 1:5 (p/v). Las muestras fueron agitadas a 60 rpm durante 30 minutos para la medición de pH y durante 60 minutos para determinar la conductividad eléctrica. Ambas mediciones se realizaron con pHmetro y conductímetro respectivamente, ajustando este último automáticamente la medida a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Fue necesario centrifugar este extracto 1:5 durante 5 minutos a 5000 rpm y filtrarlo para eliminar los sólidos en suspensión antes de la determinación de la conductividad. Tras la lectura de la conductividad eléctrica se separaron aproximadamente 50 ml de extracto y se congelaron para posteriores análisis de elementos solubles por cromatografía líquida.

4.9.4. Carbono oxidable

Se utilizó el método de oxidación del carbono en vía húmeda (*Walkley-Black*) por el ión Cr^{+6} en medio ácido (sulfúrico y fosfórico), y valoración del exceso de Cr^{+6} no consumido mediante una sal de hierro (sal de Mhor). Se tuvo el cuidado de triturar y homogeneizar muy bien las muestras de suelo antes del análisis.



Figura 9. Mortero de ágata utilizado para la trititación previa de las muestras de suelo para la determinación del carbono oxidable.

4.9.5. Sólidos volátiles totales (calcinación a 550 °C)

La estimación del contenido de materia orgánica total se realizó por calcinación a 550 °C. Para ello se pesaron muestras de suelo, previamente tamizadas a 5 mm y secadas en estufa a 105 °C, en crisoles de cerámica de 40 ml. Se colocaron en una mufla a 550 °C durante 4 horas. Una vez enfriados los crisoles, se pesaron y se calculó la pérdida de peso respecto al inicial.

4.9.6. Concentración de cationes y aniones solubles

Se cuantificaron las concentraciones de aniones y cationes solubles en los extractos de suelo utilizados previamente para la determinación de la conductividad. Para ello, se utilizó (figuras 10 y 11) un cromatógrafo de iones integrado (DIONEX® DX-100 Ion Chromatograph system). Fue preciso diluir 10 veces los extractos de suelo para ajustar la medida a las concentraciones de los patrones de aniones y cationes preparados, dentro del rango de linealidad del método. La toma de datos y los cálculos de las concentraciones se realizaron con un ordenador y el software integrado al equipo.



Figuras 10 y 11. Carrusel y cromatógrafo utilizado para la determinación de cationes (izquierda) y aniones (derecha) solubles de los extractos de suelo del bioensayo con *Hordeum vulgare*.

4.10. Determinaciones en plantas

4.10.1. Germinación

Se realizó un conteo de manera visual, anotando el número de plántulas germinadas en cada uno de los diferentes tiestos. Se cogieron datos en tres días diferentes desde la siembra, asegurándose que el último día se obtuviesen datos finales de germinación (15 días después de la siembra, véase tabla 10).

4.10.2. Desarrollo inicial

4.10.2.1. Longitud de la primera hoja

Esta tarea se realizó a los 15 días de la siembra, es decir cuando todas las plantas ya habían germinado. Con la ayuda de una regla calibrada, se anotó la longitud de la primera hoja de todas las plantas.

4.10.2.2. Aclareo y biomasa de plantas extraídas

El aclareo reduce la competencia por el agua y los nutrientes existentes debida a la elevada densidad de plantación, y permite igualar los tratamientos en cuanto al número de plantas que se desarrollarán. Se realizó al finalizar la segunda semana de crecimiento, dejando una densidad de 5 plantas/tiesto. Se tuvo cuidado de dejar aquellas plantas con porte y desarrollo similar, y repartidas por toda la superficie del tiesto. Posteriormente, se anotó el peso

fresco de la biomasa de las plantas extraídas y se dejaron secar en la estufa durante 3 días a 70 °C para la obtención de su peso seco.

4.10.3. Biomasa aérea

Se determinó en el primer y segundo muestreo destructivo a los 42 y 72 días. En primer lugar se muestrearon 5 hojas por cada réplica/tiesto, correspondientes a una hoja por planta, que se pesaron y congelaron a -20 °C para el posterior análisis de la concentración de clorofilas y carotenos. Se tuvo cuidado a la hora de seleccionar la hoja a muestrear, de manera que siendo siempre la misma hoja, fuese representativa del estado de desarrollo de la planta y en perfecto estado. De esta forma, se muestreó la cuarta hoja de cada plántula empezando por la base en el primer muestreo, y la hoja por debajo de la denominada bandera, en el segundo. A continuación, se cortó a ras de suelo todas las plantas de cara a la obtención del peso fresco restante. Estas se secaron durante 72 horas en una estufa a 70 °C para obtener el peso seco.

En el segundo muestreo se realizó en primer lugar la cosecha de las espigas, antes de la determinación del peso fresco del resto de las plantas. De las espigas se midió su peso fresco y seco, el número de espigas por planta, y el número de granos en cada espiga.

4.10.4. Biomasa subterránea y micorrización

En ambos muestreos destructivos, una vez cortada la parte aérea de todas las plantas, se pasó el suelo contenido en cada tiesto por un tamiz de 5 mm de malla, disgregando con suavidad los grumos, para retener el máximo de raíces posible en el tamiz. Se dejaron lo más limpias posible y a continuación se anotó el peso fresco de las raíces. Éstas se dividieron en dos lotes a fin de poder medir, por un lado, el contenido de humedad mediante la determinación del peso seco, y por otro, destinar la otra parte al análisis y estudio de la posible existencia de micorrizas. Para la determinación del peso seco, se secaron las raíces en una estufa a 70 °C durante 48 horas.

La fracción destinada al estudio del grado de micorrización también se pesó y sometió a un lavado con agua abundante sobre un tamiz de 1 mm de malla. Por flotación se separaron las partículas del suelo de la mayor parte de las raíces. A continuación, éstas se secaron suavemente con papel de filtro durante 2 horas para eliminar el exceso de agua del lavado, y se pesaron.

Para la observación de las posibles micorrizas, las raíces se sumergieron en una solución de KOH al 2,5% (p/v) durante 24 horas. Después de decantar la

solución alcalina y de lavar las raíces con agua abundante se escurrieron y se sumergieron en HCl 1% durante 10 minutos. Posteriormente se procedió a la tinción de las raíces, dejándolas sumergidas durante 14 horas en ácido láctico, al que se le había añadido azul de tripán al 0,05%. A continuación las raíces se decantaron y se sumergieron en glicerol ácido (500 ml glicerol + 450 ml agua + 50 ml HCl 1%). Cuatro días más tarde, las raíces se decantaron de nuevo y se conservaron en glicerol ácido hasta el momento de su estudio mediante lupa binocular y microscopio.

4.10.5. Cuantificación de pigmentos fotosintéticos

4.10.5.1. Determinación directa de clorofilas por SPAD

Para obtener un valor cuantificable y comparativo de la concentración de clorofilas a y b, se usó un medidor clorofílico (Chlorophyll Meter SPAD-502), que permite la medida sin destrucción de las hojas.

En ambos muestreos, la toma de datos se realizó paralelamente a la determinación del estrés fotosintético (véase apartado 4.10.6). La toma de valores SPAD se realizó sobre 3 plantas por cada tiesto, seleccionando una hoja por planta que estuviese en buen estado de desarrollo, presente en todas las plantas y carente de síntomas de estrés. En el primer muestreo se midió la 3ª hoja desde la base de la planta, y la 4ª hoja desde el mismo punto en el segundo muestreo. Para obtener el valor SPAD se deben de realizar 3 mediciones sobre la misma hoja, en lugares diferentes y realizar una media, la cual es el valor SPAD que se anota.

4.10.5.2. Concentración de pigmentos

La determinación de la concentración de clorofilas a (Cla) y b (Clb) y carotenos se realizó por espectrofotometría según el método descrito por *Lichtenthaler y Velburn* (1983).

Para cada una de las réplicas, se pesaron aproximadamente 200 mg de hojas previamente congeladas. A continuación, se trituraron con una pequeña cantidad de CaCO_3 para facilitar la lisis celular y a su vez estabilizar el pH de la muestra. Se añadieron 2 ml de acetona anhidra primeramente, y 2 ml de acetona al 80% a continuación, triturando antes y después de cada volumen de acetona añadido. El homogenato resultante se vertió sobre un tubo de ensayo de 10 ml con la ayuda de un embudo de vidrio y papel de filtro, y añadiendo 2 ml de acetona al 80% para lavar completamente el mortero. Para garantizar el menor deterioro posible de clorofilas se trabajó en condiciones de penumbra y

en frío mediante el uso de un baño de hielo. Se tuvo cuidado del lavado del filtro mediante la adición gota a gota de acetona al 80%. Seguidamente, se enrasó el contenido del tubo con acetona al 80% a un volumen aproximado de 10 ml y se agitó la muestra durante 5 segundos con un vibrador orbital. Por último, se diluyó la muestra 5 veces con acetona al 80% en un matraz aforado de 25 ml y se homogenizó el extracto resultante. Se midió la absorbancia a 660, 645 y 470 nm.

Mediante las ecuaciones siguientes propuestas por *Lichtenthaler y Wellburn* (1983), se calculó la concentración en las hojas de los respectivos pigmentos:

$$Cla: (12,21 * A_{660}) - (2,81 * A_{645})$$

$$Clb: (20,13 * A_{645}) - (5,03 * A_{660})$$

$$\text{Carotenos totales} = (1000 * A_{470}) - (3,27 * Cla) - (104,4 * Clb) / 229$$

4.10.6. Determinación del estrés fotosintético

Esta tarea se realizó justo antes de ambos muestreos destructivos, con las plantas todavía en el invernadero. Para el primer muestreo se seleccionó la última hoja contando desde la base de la planta, y en el segundo muestreo destructivo se seleccionó la segunda hoja siguiente a la denominada bandera (hoja que acompaña a la espiga del cereal). Se analizó una planta por tiesto. Fue necesario envolver el trozo de hoja a medir con papel de aluminio durante 30 minutos para anular en las células fotosintéticas el PSII (*water-plastoquinone oxidoreductase*) y así visualizar la emisión de fluorescencia. La toma de datos se realizó mediante el uso de un fluorímetro clorofílico (Teaching-PAM; PAM-210), el cual mide la fluorescencia en el anverso de la hoja, ya que la estructura del PSII se encuentra en la membrana tilacoidal de las plantas. Una vez se destapó la hoja, se midieron de manera rápida los dos parámetros a determinar sobre el anverso de la misma.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan los resultados que tratan de demostrar los efectos de distintos tipos de biochar o sus materias primas sobre un suelo o las plantas de cebada cultivadas en el mismo. Simultáneamente se discuten los resultados comparándolos con la bibliografía disponible.

5.1. Efectos en el suelo

5.1.1. Densidad aparente

La tabla siguiente muestra los valores de densidad aparente del suelo obtenidos a la mitad y al final del bioensayo.

Tabla 11. Densidad aparente del suelo tratado con varios tipos de biochar y sus respectivas materias primas (media \pm desviación estándar.), conteniendo todos ellos una dosis media de fertilizante mineral equivalente a la del tratamiento OL (OH control con dosis doble de fertilizante mineral), en los dos muestreos. Véase códigos de los tratamientos en tabla 7.

Tratamiento	MUESTREO 1 δ_{ap} (kg/m ³)	MUESTREO 2 δ_{ap} (kg/m ³)	p-valor<0,05
OH	1.196 \pm 16	1.387 \pm 57	+
OL	1.215 \pm 17	1.473 \pm 38	
O	1.162 \pm 18	1.296 \pm 57	**
PO	1.142 \pm 27	1.268 \pm 82	**
PG	1.143 \pm 11	1.301 \pm 46	**
PL	1.154 \pm 12	1.328 \pm 69	**
PR	1.146 \pm 16	1.281 \pm 72	**
CO	1.123 \pm 18	1.268 \pm 86	**
CL	1.151 \pm 33	1.286 \pm 73	**
CR	1.147 \pm 13	1.304 \pm 43	**
FO	1.155 \pm 25	1.390 \pm 71	**
FL	1.151 \pm 23	1.326 \pm 67	**

Se ha realizado un test ANOVA ($\alpha=5\%$, p-valor<0,0001). Tomando como referencia OL, se muestra la existencia de diferencias estadísticamente significativas (p-valor<0,05, test Fisher's PLSD) de la siguiente forma: **, indica diferencia en ambos muestreos. +, indica diferencias en muestreo 2.

Se puede observar que la adición de cualquier tipo de enmienda orgánica ha comportado una ligera disminución de la densidad aparente del suelo. En el primer muestreo ya se observa una tendencia a una menor densidad aparente, si bien son más patentes en el segundo muestreo que se corresponde con el final del cultivo.

La compactación del suelo debido al asentamiento del mismo en las macetas, ayudado por los riegos a lo largo del bioensayo, explica los valores superiores encontrados en la finalización del mismo. En ambos muestreos se observa que la porosidad total es mayor con la adición de cualquier tipo de enmienda orgánica. Es sabido que el aporte de materia orgánica genera una reducción en la densidad aparente del suelo (*Krull et al., 2004*) por la modificación de la estructura del mismo y de la distribución de los poros. En el caso del biochar, la reducción en la densidad aparente se explica también porque la densidad del mismo es menor que la de los minerales presentes en el suelo, además del efecto sobre los macro y microporos (*Downie et al., 2009*).

En cuanto al tipo de enmienda orgánica, las diferencias en los valores se explicarían por el tipo de materia prima y la técnica de pirólisis (*Downie et al., 2009*). Según la caracterización previa de los materiales realizada por Sáenz (2010), los carbones procedentes de la pirólisis rápida y la gasificación produjeron biochar de densidad aparente menor que los de pirólisis lenta y sus respectivas materias primas. Como se puede comprobar, las diferentes mezclas de suelo ensayadas no siguen completamente este patrón heredado de los materiales de partida debido a la pequeña proporción aportada al suelo como enmienda (un 1% de C). Por otra parte, la densidad aparente es mayor en los lodos ya que en este material, la existencia de minerales y sólidos más densos en su composición (*Karayildirin, 2006*) explicaría los valores superiores, que en el caso de FO es significativamente diferente al resto de enmiendas orgánicas ($p\text{-valor} < 0,05$). La volatilización de compuestos orgánicos durante la pirólisis explicaría la menor densidad en FL.

El tratamiento control (O) muestra un comportamiento difícil de explicar pues sería de esperar que fuera equivalente a OL y OH.

5.1.2. Capacidad de retención de agua

La tabla 12 refleja los valores de retención de agua encontrados en las diferentes mezclas de suelos y biochar.

En primer lugar, se observa que el control y los tratamientos solo con fertilizantes son los que tienen valores menores de retención de agua (WHC) y son similares entre sí. Cualquier tipo de enmienda orgánica ha comportado un aumento de dicha capacidad, si bien se muestran ligeras diferencias. Los tratamientos con biochar procedente de pirólisis lenta (a excepción del lodo) y rápida reportan los valores más altos. De ellos, los formados a partir de astillas de chopo presentan valores mayores, y también los de pirólisis rápida frente a la lenta. Los materiales originales muestran los valores menores del conjunto de enmiendas, aunque es curioso el caso de CO que presenta un valor muy

similar al de los controles, frente a los valores mayores de este material sometido a pirólisis. En el caso de los lodos, el material sin pirolizar muestra mayor capacidad de retención de agua que sometido a pirólisis lenta.

Tabla 12. Valores de máxima capacidad de retención de agua (WHC), (media \pm desviación estándar) e incrementos respecto al control (OL) del suelo tratado con varios tipos de biochar o sus respectivas materias primas. Véase códigos de los tratamientos en tabla 7.

Tratamiento	WHC (%)	Δ WHC (%) respecto OL	p-valor<0,05
OH	23,8 \pm 0,2	0,8	
OL	23,7 \pm 0,3	-	
O	23,3 \pm 0,7	-	
PO	24,2 \pm 0,5	2,5	*
PG	25,3 \pm 1,3	6,9	*
PL	26,1 \pm 0,3	10,5	*
PR	27,1 \pm 0,9	14,9	*
CO	23,9 \pm 0,7	1,1	
CL	27,3 \pm 0,6	15,9	*
CR	28,2 \pm 1,1	19,5	*
FO	26,2 \pm 0,2	10,8	*
FL	25,8 \pm 0,8	9,4	*

Se ha realizado un test ANOVA ($\alpha=5\%$, p-valor<0,0001). Tomando como referencia OL, un asterisco muestra existencia de diferencias estadísticamente significativas (p-valor<0,05, test Fisher's PLSD):

Los incrementos relativos al tratamiento OL siguen el mismo patrón que lo comentado.

Es conocido que la materia orgánica del suelo contribuye a la WHC. Según Glaser (2002), suelos enriquecidos en biochar como la *terra preta* tienen valores de WHC, aproximadamente un 18% superiores a los suelos adyacentes. De este modo, la adición de cualquier enmienda orgánica produce un aumento de la WHC, la cual es máxima para CR, que aproximadamente da un aumento del 19,5% respecto a OL, valor que se aproxima a la bibliografía consultada (Kristiina et al., 2011, Dugan et al., 2010). Era de esperar que los biochar aumentasen la capacidad de retención de agua del suelo, determinada en gran parte por los componentes orgánicos del mismo (Krull et al., 2004). A su vez, este efecto es más destacable en suelos con textura franco-arenosa (Krull et al., 2004).

En cuanto a las diferencias entre los distintos tratamientos con biochar, no parece que los efectos debidos a la técnica de pirólisis sean relevantes, ya que no son significativas. Las diferencias se explicarían más bien por el tipo de materia prima usado, comportando valores mayores en los biochar obtenidos a partir de madera de chopo. Los efectos debidos a la microgranulometría de estos materiales (figura 12) podrían explicar el resto de diferencias. Por

ejemplo en PG, material de alto contenido en cenizas que presenta mayormente partículas de entre 0,1 y 0,05 mm, las cuales no predominan en materiales de mayor absorción como los biochar de pirólisis lenta y rápida. Atendiendo a los valores de microgranulometría, cabría esperar un valor mayor para CO, parecido al de PO. El valor bajo de WHC en CO podría explicarse por el mayor tamaño de las partículas de astillas, dificultando la formación de agregados y por tanto una porosidad menos efectiva para la retención de agua. De hecho el tratamiento de mezcla de suelo y astilla de chopo (CO) lixiviaba frecuentemente en los riegos aplicados.

Los valores de WHC en los tratamientos con lodos son muy similares. Como el resto de tratamientos, aumentan la WHC por las características del material. Quizás la ligera diferencia entre ambos materiales, se deba a la posible pérdida de estructura del lodo al ser pirolizado causada por la volatilización de algunos de sus componentes.

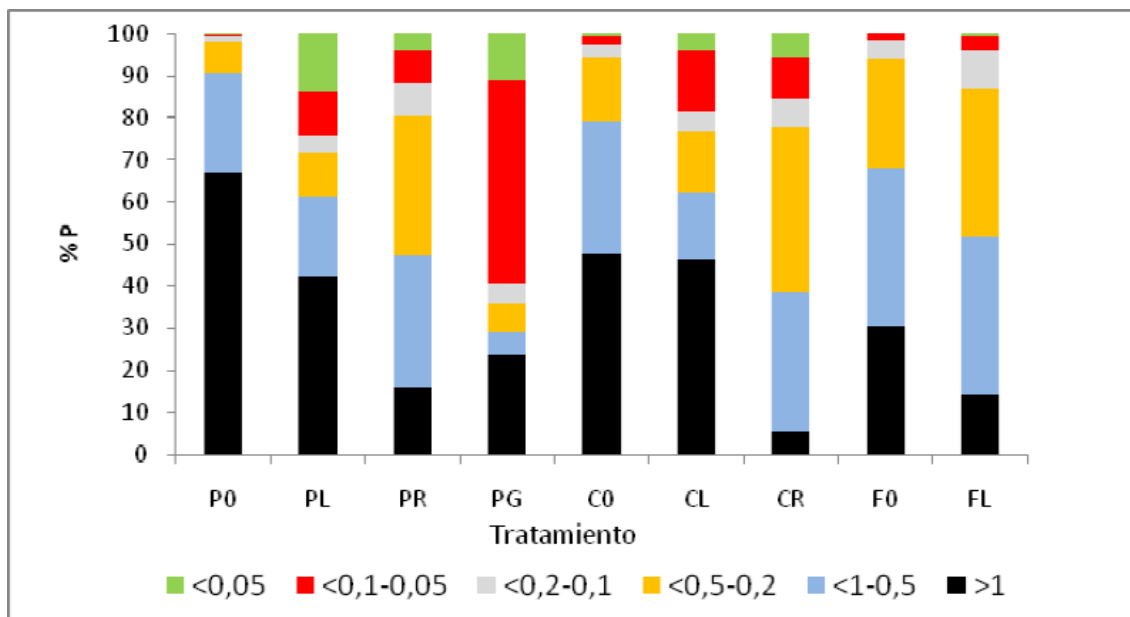


Figura 12. Distribución de tamaños de las partículas <2mm (% peso) de los materiales pirolizados y sus materias primas. Fuente: Sáenz, D. (2010).

5.1.3. pH

Los tratamientos ensayados han modificado el pH del suelo de partida y éste ha variado a lo largo del bioensayo. En la figura siguiente se observan estos resultados.

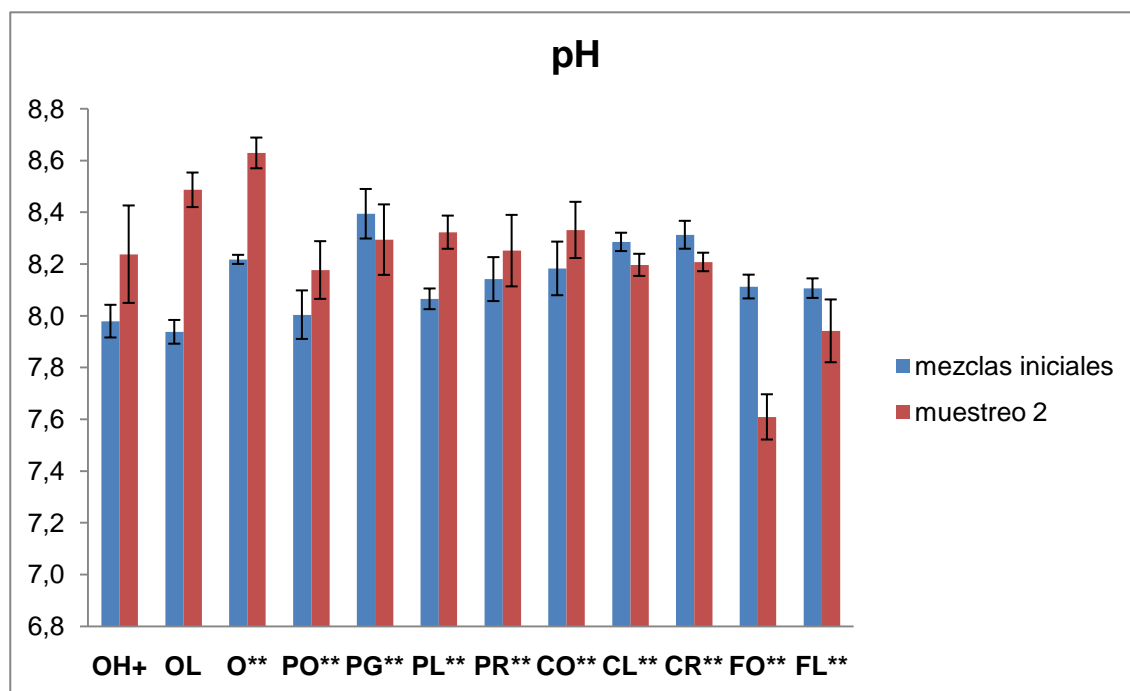


Figura 13. Valores de pH en agua en el suelo tratado con varios tipos de biochar y sus respectivas materias primas, conteniendo todos ellos una dosis media de fertilizante mineral equivalente a la del tratamiento OL (OH, control con dosis doble de fertilizante mineral), al inicio del experimento y después de la cosecha (muestreo 2). Véase códigos de los tratamientos en tabla 7. Las barras en negro indican la desviación estándar. Se ha realizado un test ANOVA ($\alpha=5\%$, $p\text{-valor}<0,0001$). Tomando como referencia OL, se muestra diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-valor}<0,05$, test Fisher's PLSD) de la siguiente forma: **, indica diferencia tanto en mezclas iniciales como en muestreo 2. +, indica diferencia en muestreo 2.

Como se puede observar, tanto la fertilización como la aplicación de enmiendas provocan una ligera acidificación del suelo de referencia, el cual presenta un pH de 8,2. Para el resto de tratamientos se debe fijar como referencia el tratamiento OL, pues contienen igual régimen de fertilización. De esta forma, se puede observar que la adición de los distintos tipos de biochar provoca un aumento del pH, especialmente en los tratamientos PG, CL y CR. La alcalinización del suelo es menor para los tratamientos que contienen fangos de depuradora. En cuanto a la adición de enmiendas orgánicas no pirolizadas, se observa variabilidad, ya que la astilla de chopo sí aumenta el valor de pH significativamente ($p\text{-valor}<0,0001$), mientras que para PO este aumento tiene menor significación ($p\text{-valor}<0,04$).

Son notables los cambios de pH durante el bioensayo, especialmente si tenemos en cuenta que el suelo es un medio que tiende a amortiguar las variaciones en acidez. El suelo de referencia sigue siendo el más básico con un valor de 8,63. Igualmente, se produce una importante alcalinización en los tratamientos únicamente fertilizados y aparece un gradiente que muestra un pH más básico en OL. En comparación con este tratamiento, se observan diferentes respuestas en la adición del resto de enmiendas. Por una parte, se observan tratamientos que siguen el mismo patrón de aumento de pH, como son PO, PL, PR y CO (si bien los valores son más bajos respecto a OL). El biochar de gasificación (PG) pese a mantener la tendencia alcalinizante, este efecto es menor que al inicio. Por otro lado, los biochar de chopo (CL y CR) muestran una ligera tendencia acidificante. No obstante, el mayor efecto acidificante se encuentra en los tratamientos con lodos, encontrando el valor más ácido y de mayor diferencia significativa al resto ($p\text{-valor} < 0,0001$) en el material no pirolizado.

El pH inicial del suelo control es el característico de los suelos de la comarca del Vallés de donde procede debido a un moderado contenido de carbonatos (*ver material y métodos*). La incorporación del fertilizante mineral produce una ligera acidificación como era de esperar, debido a la adición de sulfato amónico y el desplazamiento de H^+ del complejo de cambio por la adsorción de los nutrientes aplicados. El efecto de la enmienda con biochar o su materia prima es variado; los biochar de chopo tienen una mayor tendencia inicial a alcalinizar que los biochar de pino y lodo. El biochar de gasificación se comporta de modo distinto y tiende a alcalinizar el suelo debido a su similitud con las cenizas volantes de una central de biomasa.

Es importante, tener en cuenta la naturaleza de cada tipo de biochar. En la producción de estos productos se pueden obtener partículas con un pH desde 4 hasta 12, dependiendo del material de origen y del tipo de pirólisis. En cuanto al proceso de pirólisis, la temperatura y el tiempo de residencia serían los factores que más influirían en el pH, aumentando normalmente el mismo con el aumento de ambos parámetros (*Lehmann, 2007, Chan y Xu, 2009*). En conclusión, la carbonización por pirólisis tiende a aumentar el pH de los materiales (*Lehmann, 2007b*). No obstante, también es importante el contenido de cenizas asociadas al biochar, esto explicaría la mayor tendencia alcalinizadora de PG, el cual es un tipo de biochar con alto contenido en estas partículas. Al finalizar el bioensayo, el efecto alcalinizante de PG es menor, posiblemente debido a la pérdida de cenizas por lavado o absorción.

La importante alcalinización en O, OL y OH al final del experimento podría explicarse por la lixiviación y la asimilación de nutrientes por las plantas. En concreto, O al igual que CO fueron dos tratamientos que frecuentemente lixivaban en los riegos. En el caso de las materias primas de chopo y pino, el

aumento de pH en las mezclas de suelo podría deberse a la pérdida y mineralización de compuestos de la madera solubles en agua, que se caracterizan por su acidez, como son ácidos orgánicos y sales ácidas (Wengert, 1998). A su vez, la astilla de chopo alcaliniza más debido a la diferente composición química de su madera. Como puede observarse, la astilla de chopo tendría un pH más básico que la de pino.

Los materiales pirolizados a partir de estas astillas (PL, PR, CL CR) siguen denotando estas diferencias de pH, debido al proceso de pirólisis. Inicialmente, CL y CR presentan mayor pH, hecho que cambia al finalizar el bioensayo. Se observa un comportamiento inverso a los biochar de pino, siendo ligeramente superiores los valores de pH de PL y PR. Quizás este aumento de pH en PL y PR pueda deberse al aumento en la retención de cationes básicos, es decir en el aumento de la capacidad de intercambio catiónico (CIC). La variabilidad en el contenido inicial en cenizas también podría explicar las diferencias en la evolución del pH.

En el caso de los tratamientos con lodo, la alcalinización inicial se explicaría por el elevado contenido de elementos básicos como Na, K, Mg, Ca y de calcita (*véase apartado de concentración de cationes y aniones solubles*) muy comunes en lodos de depuradora (Gaskin et al., 2008). El nitrógeno en forma amoniacal provoca acidez debido a la liberación de protones que se produce en la formación de nitratos (nitrificación), que explicaría la acidificación del suelo a lo largo del bioensayo. El efecto es mayor en FO, ya que la materia prima del lodo de depuradora contiene mayor concentración de NH_4^+ . Por el contrario, la acidez es menor en FL ya que el biochar de lodo tiene menor concentración de NH_4^+ .

5.1.4. Salinidad

La conductividad eléctrica de los extractos en agua de los tratamientos da información sobre la concentración de sales solubles en los mismos. En la figura 14 se observan diferencias importantes, entre las que destacan la salinidad debida al aporte de lodos o del fertilizante mineral.

En comparación con el suelo base, todos los tratamientos ensayados muestran un aumento de la salinidad similar al del suelo con la mitad de dosis fertilizante (OL), a excepción del valor superior encontrado en OH en el muestreo 2, y de los tratamientos con lodos, en los cuales se observa un comportamiento diferente. El tratamiento de lodo pirolizado muestra valores similares a OH, aunque el valor de conductividad es ligeramente superior al finalizar el bioensayo. Por otra parte, FO aporta los valores superiores de conductividad en ambos períodos del bioensayo. Para el resto de tratamientos, no parece que

la diferente composición en elementos, cenizas, granulometría, etc. de las materias primas y los materiales pirolizados haya tenido especial relevancia (a excepción de los lodos), pues los valores son muy similares a los del tratamiento OL.

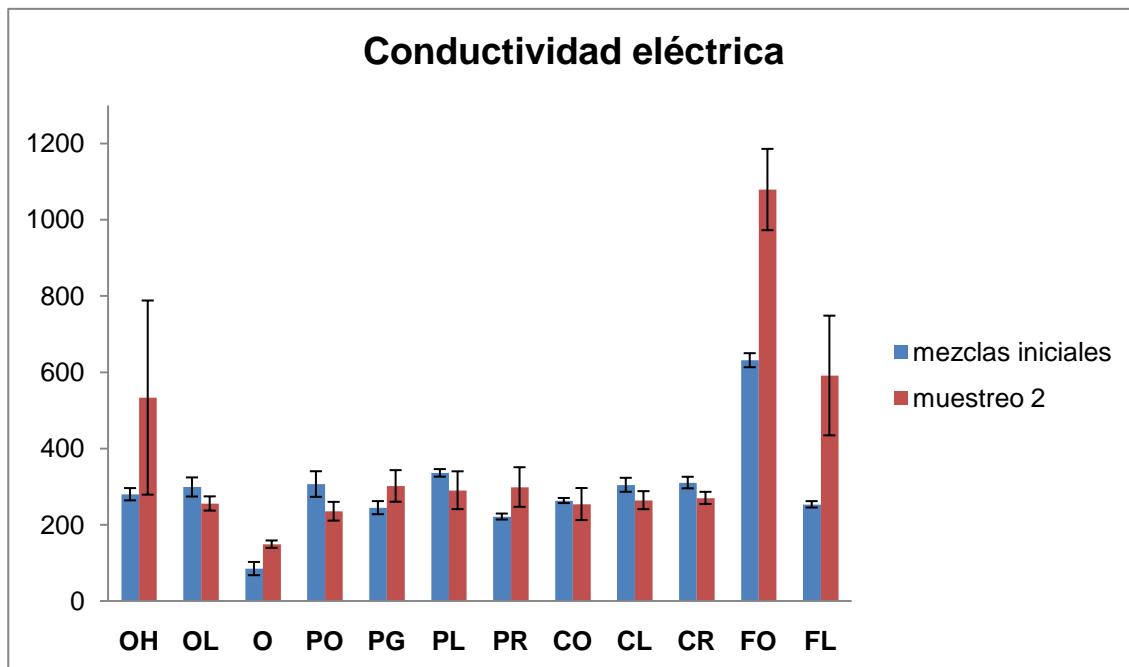


Figura 14. Valores de conductividad eléctrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) del extracto en agua (1:5 p/v) medidos a 25 °C del suelo tratado con varios tipos de biochar y sus respectivas materias primas, al inicio del experimento y tras la formación de espigas (muestreo 2). Véase códigos de los tratamientos en tabla 7. Las barras en negro indican la desviación estándar.

La concentración de sales solubles en el suelo es un parámetro bastante variable, sensible a los procesos de mineralización de la materia orgánica y a pérdidas por lixiviación o absorción de nutrientes.

El aumento similar en el valor de salinidad inicial de todos los tratamientos se explicaría debido al aporte de fertilizante mineral (sales de N, P y K). Para los tratamientos con lodos, se observa mayor valor inicial FO, lógico por su alto contenido en sales minerales (*ver apartado concentración de cationes y aniones solubles*). Se puede observar claramente que al final del experimento se ha producido un aumento de la salinidad en los tratamientos con lodo, que se explica por la rápida mineralización de su materia orgánica durante el bioensayo. Más difícil de explicar es el aumento de salinidad en el tratamiento OH, máxime cuando debería haber sido mayor al inicio. El gran valor de desviación indica que no ha habido uniformidad en la lixiviación de sales. Las variaciones de salinidad en el resto de tratamientos son pequeñas lo que sugieren un balance equilibrado entre los procesos de mineralización de la materia orgánica (incremento de la salinidad) y las pérdidas por lixiviación o

absorción de nutrientes. Cabría esperar un valor superior en PG, por el contenido en cenizas de este material.

La elevada salinidad del tratamiento con lodo (FO) era de esperar ya que es un efecto conocido de las aplicaciones de estos residuos orgánicos. Se observa también la importante reducción de la conductividad eléctrica producida por la transformación en biochar de este lodo que conlleva la pérdida de nitrógeno amoniacal y de compuestos de azufre durante la pirólisis (*Hossain et al. 2011*).

5.1.5. Concentración de cationes y aniones solubles

Las siguientes tablas muestran las concentraciones de aniones solubles en los suelos recogidos al inicio (tabla 13) y al final del bioensayo (tabla 14).

Tabla 13. Valores (media \pm desviación estándar) de concentración de aniones solubles al inicio del bioensayo, obtenidos de extractos de suelo tratado con varios tipos de biochar y sus respectivas materias primas, todos ellos con una dosis media de fertilizante mineral equivalente a la del tratamiento OL (OH control con dosis doble de fertilizante mineral). Véase códigos de los tratamientos en tabla 7.

Tratamiento	Cl ⁻ mg·kg ⁻¹	NO ₃ ⁻ mg·kg ⁻¹	NO ₂ ⁻ mg·kg ⁻¹	SO ₄ ²⁻ mg·kg ⁻¹	HPO ₄ ²⁻ mg·kg ⁻¹
OH	30,2 \pm 4,8	57,0 \pm 4,0	2,1 \pm 0,5	485,8 \pm 95,6	20,5 \pm 4,3
OL	29,4 \pm 5,0	50,9 \pm 7,9	1,5 \pm 0,5	475,5 \pm 82,1	10,9 \pm 5,5
O	30,8 \pm 9,7	53,5 \pm 8,0	1,4 \pm 0,5	11,0 \pm 5,2	9,8 \pm 1,9
PO	30,3 \pm 9,3	54,7 \pm 8,8	2,5 \pm 0,8	605,3 \pm 126,5	22,9 \pm 8,4
PG	42,2 \pm 7,1	49,1 \pm 5,7	1,4 \pm 1,0	373,1 \pm 32,3	13,9 \pm 3,2
PL	28,7 \pm 4,6	52,5 \pm 6,1	1,5 \pm 0,3	650,1 \pm 37,0	31,3 \pm 11,8
PR	33,9 \pm 7,0	56,0 \pm 5,5	1,4 \pm 0,7	337,4 \pm 63,1	16,2 \pm 4,5
CO	34,5 \pm 6,4	57,3 \pm 2,2	1,9 \pm 1,5	391,9 \pm 40,8	15,1 \pm 6,9
CL	35,3 \pm 7,6	52,4 \pm 7,0	1,9 \pm 0,9	492,4 \pm 57,0	24,8 \pm 11,3
CR	43,5 \pm 12,7	46,5 \pm 6,6	2,8 \pm 0,8	467,9 \pm 44,1	17,5 \pm 5,8
FO	164,5 \pm 24,3	65,0 \pm 19,1	1,5 \pm 0,9	1.165,8 \pm 512,0	13,1 \pm 5,2
FL	130,1 \pm 27,9	49,5 \pm 3,6	2,2 \pm 0,8	281,4 \pm 15,0	9,1 \pm 2,5

Al inicio del bioensayo se observa que los mayores valores significativamente diferentes de concentración de los distintos aniones se encuentran en el tratamiento con lodo de depuradora sin pirolizar, a excepción de la concentración de fosfatos, que muestra variabilidad en los diferentes tratamientos. La concentración de nitrito es una excepción, ya que muestra valores similares y bajos en todos los tratamientos, lo cual también sucede al finalizar el bioensayo. Para los fosfatos, pero sobre todo en el caso de la concentración inicial de sulfato, el valor del suelo control (O) es significativamente menor. Los valores superiores se muestran en la

concentración de sulfatos en los diferentes tratamientos. Son observables también las diferencias entre FO y FL, siendo significativamente menores los valores de concentración de los diversos aniones en FL respecto a FO, a excepción de la concentración de cloruros.

Tabla 14. Valores (media \pm desviación estándar) de concentración de aniones solubles al finalizar el bioensayo, obtenidos de extractos de suelo tratado con varios tipos de biochar y sus respectivas materias primas. Véase códigos de los tratamientos en tabla 7.

Tratamiento	Cl ⁻ mg·kg ⁻¹	NO ₃ ⁻ mg·kg ⁻¹	NO ₂ ⁻ mg·kg ⁻¹	SO ₄ ²⁻ mg·kg ⁻¹	HPO ₄ ²⁻ mg·kg ⁻¹
OH	71,7 \pm 18,6	438,2 \pm 412,1	3,0 \pm 0,5	1.165,7 \pm 491,8	26,0 \pm 7,9
OL	39,5 \pm 10,2	18,4 \pm 8,2	1,4 \pm 0,7	527,9 \pm 56,2	21,5 \pm 4,3
O	67,4 \pm 14,5	9,0 \pm 1,7	1,8 \pm 0,6	147,3 \pm 16,6	20,9 \pm 8,6
PO	40,6 \pm 4,6	11,3 \pm 5,1	1,7 \pm 0,7	413,5 \pm 149,9	19,7 \pm 2,7
PG	41,4 \pm 11,3	15,8 \pm 3,4	2,0 \pm 0,8	578,7 \pm 181,6	10,0 \pm 4,3
PL	44,1 \pm 9,8	16,0 \pm 6,4	1,4 \pm 0,7	602,9 \pm 190,4	12,8 \pm 4,3
PR	48,4 \pm 10,5	26,2 \pm 11,9	1,5 \pm 0,7	641,5 \pm 168,0	12,5 \pm 4,3
CO	47,1 \pm 9,1	9,1 \pm 3,6	2,4 \pm 1,5	444,5 \pm 158,2	12,7 \pm 3,8
CL	46,4 \pm 13,2	16,6 \pm 7,5	3,1 \pm 1,1	605,8 \pm 170,6	14,0 \pm 7,1
CR	35,7 \pm 9,0	9,5 \pm 4,4	1,5 \pm 0,4	493,6 \pm 163,6	13,6 \pm 5,5
FO	219,4 \pm 26,4	2.905,4 \pm 859,0	6,4 \pm 1,0	1.540,3 \pm 339,4	13,3 \pm 7,6
FL	275,8 \pm 178,9	24,0 \pm 18,0	1,4 \pm 0,6	1.337,2 \pm 581,3	18,4 \pm 13,1

En el muestreo 2, se observa un aumento generalizado de los valores de cloruro. Lo contrario sucede en el caso de los nitratos, a excepción de FO y OH donde aumentan mucho. La concentración de fosfatos y sulfatos al finalizar el experimento muestra un comportamiento variable en los diferentes tratamientos, aumentando su concentración respecto a la inicial en algunos, y descendiendo la concentración en otros.

El riego, consumo de nutrientes por las plantas y la fertilización permiten explicar alguno de los valores de concentración de aniones y sus cambios a lo largo del bioensayo. Parece que la concentración de cloro es bastante similar en todos los tratamientos, el aumento al finalizar el experimento se explicaría por la presencia de este anión en el agua de riego. El cloro muestra una tendencia de acumulación en el suelo debido a la ausencia de lixiviados. Esta acumulación se ha producido de manera diferente en los distintos tratamientos. Solamente difiere el comportamiento de FO y FL, debido a la naturaleza del lodo de depuradora. El descenso de nitratos se explica por el consumo de las plantas de este anión, también debido a las posibles pérdidas por lixiviación. El gran aumento de nitratos en FO se explica por la nitrificación ocurrida a lo largo del bioensayo. Se comprueba que este efecto es significativamente menor en la mezcla de suelo y lodo pirolizado (FL). En el caso de los sulfatos es claro el efecto del fertilizante, que explica el valor bajo de O en comparación al resto.

En los tratamientos en los cuales ha aumentado la concentración de este anión, podría explicarse por el agua de riego, y la mineralización de la materia orgánica; por otro lado, el consumo por las plantas podría explicar los descensos. Los valores de fosfatos son muy variables y están infravalorados, pues el fosfato es muy poco soluble en agua. El tratamiento OH muestra un comportamiento difícil de explicar.

A continuación se muestran las concentraciones de cationes solubles en los diferentes tratamientos al inicio (tabla 15) y final del ensayo (tabla 16).

Tabla 15. Valores (media \pm desviación estándar) de concentración de cationes solubles al inicio del bioensayo, obtenidos de extractos de suelo tratado con varios tipos de biochar y sus respectivas materias primas, conteniendo todos ellos una dosis media de fertilizante mineral equivalente a la del tratamiento OL (OH control con dosis doble de fertilizante mineral), Véase códigos de los tratamientos en tabla 7.

Tratamiento	Na ⁺ mg·kg ⁻¹	NH ₄ ⁺ mg·kg ⁻¹	Mg ²⁺ mg·kg ⁻¹	Ca ²⁺ mg·kg ⁻¹	K ⁺ mg·kg ⁻¹
OH	21,9 \pm 3,1	33,4 \pm 4,0	24,0 \pm 4,5	279,8 \pm 44,6	28,6 \pm 3,2
OL	20,2 \pm 4,2	42,3 \pm 7,9	22,9 \pm 6,9	275,3 \pm 95,6	27,7 \pm 5,9
O	24,1 \pm 6,7	11,6 \pm 4,2	14,5 \pm 6,5	139,7 \pm 11,8	23,0 \pm 5,2
PO	24,0 \pm 8,8	46,7 \pm 6,6	24,2 \pm 6,9	321,0 \pm 52,7	33,4 \pm 10,4
PG	29,7 \pm 6,7	32,2 \pm 4,1	18,1 \pm 4,2	239,7 \pm 10,1	37,8 \pm 8,0
PL	24,2 \pm 3,1	47,0 \pm 4,2	28,4 \pm 1,8	328,9 \pm 13,7	39,3 \pm 3,4
PR	27,1 \pm 5,2	26,7 \pm 7,6	22,4 \pm 3,4	254,3 \pm 37,8	36,3 \pm 6,9
CO	30,4 \pm 10,3	33,3 \pm 5,3	22,2 \pm 1,7	256,6 \pm 13,7	37,6 \pm 8,3
CL	29,8 \pm 5,2	37,1 \pm 5,3	25,0 \pm 4,5	285,3 \pm 54,5	42,3 \pm 4,8
CR	31,9 \pm 7,1	38,3 \pm 4,0	23,1 \pm 4,8	266,9 \pm 25,2	46,5 \pm 6,3
FO	85,2 \pm 29,6	165,8 \pm 44,9	56,1 \pm 20,3	477,3 \pm 179,1	66,3 \pm 22,1
FL	39,5 \pm 14,0	14,2 \pm 5,8	21,0 \pm 3,0	253,3 \pm 6,0	38,4 \pm 11,0

De igual forma que se observaba mayor concentración de aniones en los tratamientos con lodo de depuradora al comienzo del bioensayo, se produce también este hecho para los cationes solubles analizados. Los valores del tratamiento con lodo pirolizado son menores que los respectivos de la mezcla de suelo con la materia prima sin pirolizar, especialmente es significativa la menor concentración de amonio, donde FL tiene un valor significativamente menor que el resto, al igual que sucede con el suelo control (O). El suelo control también muestra un valor significativamente inferior en las concentraciones de magnesio, calcio y potasio solubles. En el resto de cationes, FL muestra unos valores medios similares al resto de tratamientos. Conviene destacar como valores más altos las concentraciones de calcio en las diferentes mezclas de suelos.

Tabla 16. Valores (media \pm desviación estándar) de concentración de cationes solubles al finalizar el bioensayo, obtenidos de extractos de suelo tratado con varios tipos de biochar y sus respectivas materias primas. Véase códigos de los tratamientos en tabla 7.

Tratamiento	Na ⁺ mg·kg ⁻¹	NH ₄ ⁺ mg·kg ⁻¹	Mg ²⁺ mg·kg ⁻¹	Ca ²⁺ mg·kg ⁻¹	K ⁺ mg·kg ⁻¹
OH	74,2 \pm 9,6	3,4 \pm 1,3	55,5 \pm 23,6	632,5 \pm 286,9	32,2 \pm 12,3
OL	54,4 \pm 20,3	2,5 \pm 1,4	20,5 \pm 8,6	249,2 \pm 75,3	20,2 \pm 5,9
O	64,2 \pm 12,8	2,9 \pm 0,8	12,9 \pm 3,0	145,7 \pm 15,6	25,8 \pm 7,6
PO	53,1 \pm 10,5	2,4 \pm 0,6	23,0 \pm 7,2	245,9 \pm 62,8	11,8 \pm 2,0
PG	68,6 \pm 9,9	3,0 \pm 0,6	34,3 \pm 10,8	329,6 \pm 105,2	21,0 \pm 6,7
PL	71,2 \pm 12,1	4,6 \pm 0,8	28,6 \pm 7,5	308,0 \pm 76,6	22,7 \pm 7,8
PR	71,0 \pm 12,0	7,7 \pm 2,3	33,5 \pm 8,4	340,6 \pm 73,5	19,9 \pm 3,5
CO	58,7 \pm 7,8	3,1 \pm 0,9	22,6 \pm 6,0	229,1 \pm 35,9	15,9 \pm 3,0
CL	82,8 \pm 25,9	3,4 \pm 0,7	31,4 \pm 11,3	300,2 \pm 68,4	17,9 \pm 6,6
CR	54,0 \pm 14,0	3,8 \pm 2,7	22,5 \pm 8,7	247,1 \pm 82,1	14,9 \pm 3,9
FO	153,8 \pm 38,7	10,0 \pm 4,0	161,2 \pm 48,9	1.628,1 \pm 163,0	35,6 \pm 10,5
FL	132,7 \pm 47,9	4,7 \pm 2,1	71,0 \pm 39,9	616,6 \pm 252,2	26,7 \pm 13,4

Al finalizar el bioensayo, destaca el aumento de concentración de sodio en los suelos en todos los tratamientos, así como la reducción de la concentración de amonio. El magnesio y calcio también comportan un ligero aumento generalizado en los diferentes tratamientos. Los valores de potasio muestran un comportamiento variable respecto a las concentraciones al inicio del experimento y entre los diferentes tratamientos, observándose ligeros aumentos o reducciones en su concentración.

Al igual que en el caso de las concentraciones de aniones, el riego permite explicar algunos resultados como sería el aumento de la concentración de sodio al finalizar el bioensayo. La reducción de amonio se debe al proceso de nitrificación. Ello provoca que los valores finales sean muy similares, debido también al consumo de nitrógeno que van realizando las plantas.

La fertilización es más destacable en las concentraciones de cationes que de aniones, y de esta forma se explica las diferencias de concentración de magnesio, calcio y potasio de los diferentes tratamientos respecto al suelo control sin fertilizar (O). El consumo de las plantas, así como la lixiviación permite explicar la ocurrencia de ligeras reducciones de estos elementos. Los ligeros aumentos en estos cationes, como en el caso del magnesio, son más difíciles de interpretar y podría deberse al agua de riego. El valor alto de calcio se explica por las características edáficas del suelo base (*ver materiales y métodos*).

Según los valores anteriores y como era de esperar, se puede deducir que amonio, potasio y fosfato parecen ser los nutrientes limitantes del cultivo.

5.1.6. Carbono orgánico oxidable

En la figura siguiente se presentan los resultados del contenido de carbono oxidable de las mezclas de suelo al inicio del ensayo en el invernadero y al final, una vez recolectadas las plantas.

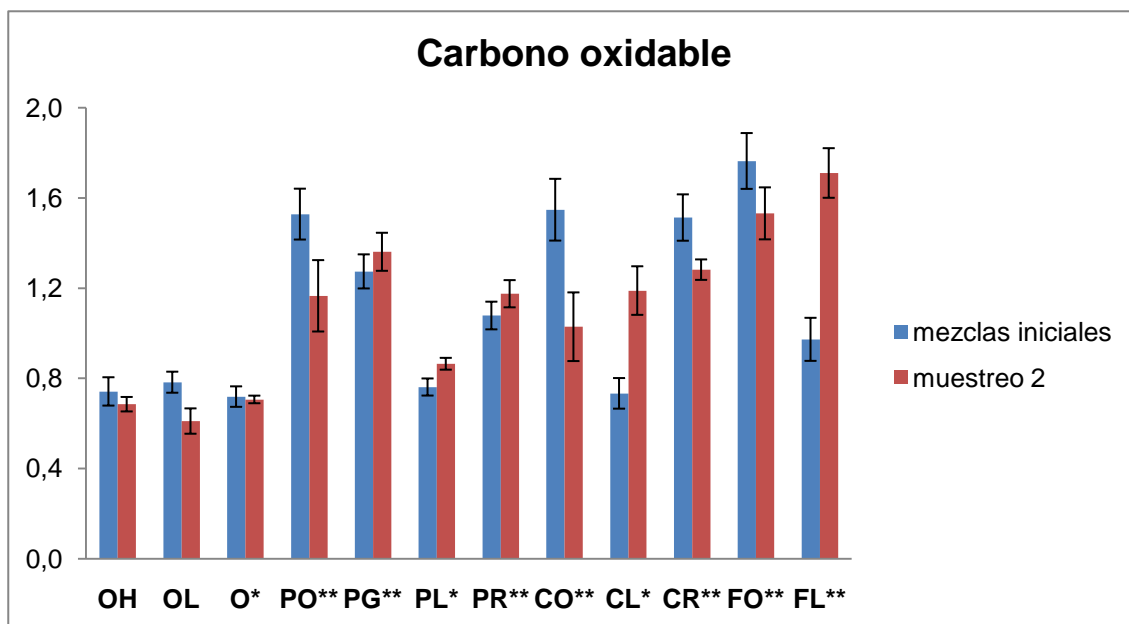


Figura 15. Concentración de carbono orgánico oxidable (%) en el suelo tratado con varios tipos de biochar y sus respectivas materias primas, al inicio del experimento y después de la cosecha (muestreo 2). Véase códigos de los tratamientos en tabla 7. Las barras en negro indican la desviación estándar. Se ha realizado un test ANOVA ($\alpha=5\%$, $p\text{-valor}<0,0001$). Tomando como referencia OL, ** muestra diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-valor}<0,05$, test Fisher's PLSD) en ambos muestreos, * indica diferencias en el muestreo 2.

En ambos momentos del ensayo, se aprecia que los valores menores y similares entre sí, son los correspondientes a los tratamientos control con diferente proporción de fertilizante (O, OH y OL).

Analizando los resultados del resto de tratamientos encontrados al inicio del experimento, se observa que son las mezclas con biochar de pirólisis lenta de pino y chopo, las que tienen una menor proporción de materia orgánica oxidable, siendo ambos valores medios similares a los de OL y diferentes significativamente del resto de tratamientos. FL también reporta un valor bajo, aunque significativamente superior ($p\text{-valor}<0,05$) a los otros dos tipos de biochar de pirólisis lenta. Las materias primas, al inicio del experimento, son las que tienen una materia orgánica más fácilmente oxidable, si bien se reduce de forma apreciable al final del bioensayo. El valor mayor corresponde al lodo de depuradora sin pirolizar. El resto de tratamientos presentan un valor inferior a

los de sus respectivas materias primas, aunque destaca el alto valor de CR, que no difiere significativamente del tratamiento con astilla de chopo (CO).

Al finalizar el bioensayo, se aprecia un comportamiento distinto en cada tratamiento. Aumentan significativamente los valores de carbono oxidable en los tratamientos con biochar de pirólisis lenta, siendo apreciable este aumento en FL y CL, y menor en PL. De hecho, el valor de FL es el mayor de la serie, y PL el menor valor de los tratamientos con enmienda. Por otra parte, mientras la concentración de carbono oxidable en PG y PR aumenta, la de CR disminuye. Por último, los valores mayores se observan en los tratamientos con lodos de depuradora.

Si bien la dosis nominal de C añadida fue igual en todos los tratamientos con biochar y sus materias primas (1%), los resultados de la concentración de carbono oxidable reflejan diferencias notables que se explican por el distinto grado de oxidabilidad de la materia orgánica de cada biochar. De acuerdo con los niveles de carbono oxidable del suelo control y el 1% de C añadido con cada tipo de material, cabría esperar valores de carbono orgánico total de entre 1,70 y 1,80 %. Los resultados demuestran que no medimos el C orgánico total, sino el oxidable, y aquí es donde se diferencian las enmiendas utilizadas como se puede deducir de la oxidabilidad de cada biochar con dicromato (tabla 17).

Tabla 17. Análisis de carbono oxidable con dicromato potásico (media \pm desviación estándar) y contenido de Sólidos Volátiles Totales (SVT) de distintos tipos de biochar y sus respectivas materias primas. Véase códigos en tabla 7. Fuente: carbono reactivo al dicromato, Oriol Ortiz (comunicación personal) y SVT, Sáenz (2010).

Tratamiento	$K_2Cr_2O_7$ C (g·kg ⁻¹)	SVT (g·kg ⁻¹)	Ratio SVT/Coxidable
PO	505 \pm 34	990	1,96
PG	475 \pm 48	680	1,43
PL	108 \pm 10	960	8,8
PR	141 \pm 29	640	4,53
CO	504 \pm 20	990	1,96
CL	103 \pm 27	950	9,22
CR	149 \pm 1	850	5,70
FO	311 \pm 79	600	1,92
FL	147 \pm 19	260	1,77

Se puede observar que los valores más altos de carbono oxidable se dan en CO, PO y FO. Las materias primas, como era de esperar por su composición (*ver apartado sólidos volátiles totales*), tienen una materia orgánica más fácilmente oxidable. Al final del ensayo sigue demostrándose este hecho; la mineralización de la materia orgánica de las mezclas de suelo con enmiendas de estos materiales originales, explica la reducción en los valores de carbono orgánico oxidable.

Los valores inferiores de carbono orgánico oxidable en las mezclas de suelo y biochar procedente de pirólisis lenta, se explicarían por la baja oxidabilidad de la materia orgánica de dichos materiales (tabla 17). Las diferencias entre estos valores y respecto al resto de materiales podrían deberse a la diferente composición de las materias primas de que proceden (*ver apartado sólidos volátiles totales*) y por la técnica de pirólisis, que genera partículas más gruesas que las procedentes de la pirólisis rápida (*Downie et al., 2009*). La menor oxidabilidad de los materiales tratados por pirólisis lenta permite explicar la no existencia de mineralización microbiana de la materia orgánica en las mezclas de suelo con estas enmiendas, sino más bien se observa un aumento de la misma al finalizar el ensayo, al contrario que sucedía con las materias primas. El aumento de carbono orgánico oxidable no guarda relación con la diferente oxidabilidad de los materiales por separado y muestra un comportamiento difícil de explicar. Por un lado, no parece que la biomasa radicular permita explicar el importante aumento de materia orgánica en CL y FL (*ver apartado de biomasa radicular*), lo cual sugiere que podría deberse a la presencia de una mayor biomasa microbiana en los suelos de estos tratamientos, lo que guardaría relación con la mayor oxidabilidad de estos materiales frente a PL.

Los materiales procedentes de pirólisis rápida muestran unos valores similares en oxidabilidad a FL (tabla 17), sin embargo en las mezclas de suelo los valores de carbono orgánico oxidable son superiores, significativamente en el caso de CR, lo cual podría deberse a la diferente composición de las materias primas. La mayor oxidabilidad de la materia orgánica de estos materiales podría explicarse por la granulometría de los mismos, que condiciona la oxidabilidad de las partículas, ya que las superficies exteriores de las partículas de biochar son más oxidables (*Lehmann et al., 2005*). Algunos estudios indican que la pirólisis rápida y la gasificación disminuyen el tamaño de partícula debido a la rápida volatilización de compuestos, el aumento de macroporos y fragmentos de carbón (*Brewer et al., 2009*). Esto puede ser explicado por la elevada temperatura de pirólisis en la gasificación y/o por el corto tiempo de residencia en la pirólisis rápida, que podrían impedir la consolidación de algunos procesos importantes para la formación estructural de el biochar, como la polimerización de los compuestos primarios y la grafitización del carbono (*McDougall, 1991*). Sin embargo, la grafitización de partículas en PG debido a sus temperaturas y tiempos de residencia puede explicar que la oxidabilidad de la materia orgánica de este material sea mayor. Los valores de carbono oxidable al final de ensayo muestran un comportamiento más difícil de explicar, ya que mientras que en el caso de CR se observa posible mineralización, en PR y PG se produce un ligero aumento de materia orgánica.

5.1.7. Sólidos volátiles totales

Dada la distinta oxidabilidad de los materiales, se completó el estudio con la determinación de las pérdidas por calcinación a 550 °C que dan una información equiparable al contenido de materia orgánica total (MOT). En la figura siguiente se muestran los resultados al inicio y final del experimento en el invernadero.

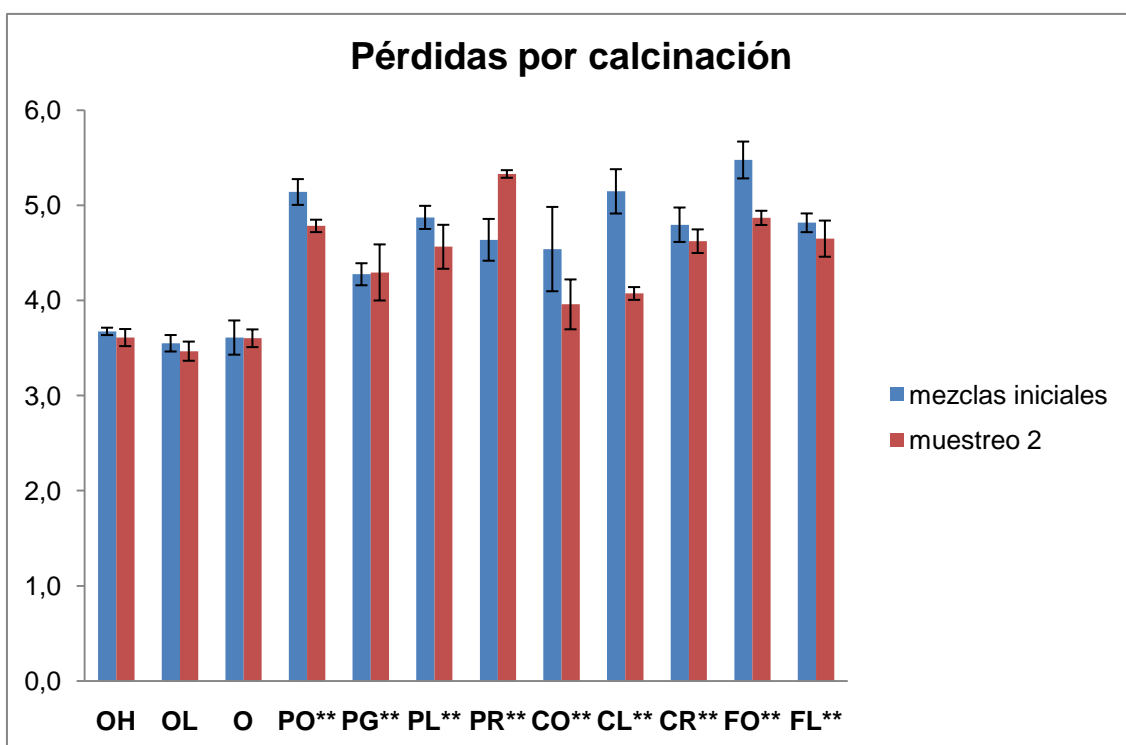


Figura 16. Pérdida de peso (g) por calcinación a 550 °C en el suelo tratado con varios tipos de biochar y sus respectivas materias primas, al inicio del experimento y después de la cosecha (muestreo 2). Véase códigos de los tratamientos en tabla 7. Las barras en negro indican la desviación estándar. Se ha realizado un test ANOVA ($\alpha=5\%$, p-valor<0,0001). Tomando como referencia OL, ** muestra diferencias estadísticamente significativas (p-valor<0,05, test Fisher's PLSD) en ambos muestreos.

Los tratamientos control-fertilizante son los que presentan los valores menores y similares entre sí en pérdidas por calcinación en ambos momentos del bioensayo. Todos los demás tratamientos son significativamente diferentes respecto a OL (p-valor<0,0001).

En el resto de mezclas iniciales, destacan los valores altos de las materias primas, de las que el lodo depuradora es el mayor y significativamente diferente del resto de tratamientos (p-valor<0,05). Los valores de las mezclas a base de astilla de chopo son ligeramente superiores a los producidos a partir de la astilla de pino. En este sentido, por ejemplo CL difiere de PG y PR (p-valor<0,05) y CR respecto a PG (p-valor<0,05). Por el contrario, el valor de PO es superior a CO y CR (p-valor<0,05). Al inicio del bioensayo, el valor más bajo

se observa en PG, el cual difiere respecto al resto de mezclas de suelo y astilla de pino ($p\text{-valor}<0,05$).

En el muestreo 2 disminuyen los valores de las materias primas, si bien siguen siendo de los más altos, a excepción de CO, que es de los menores (al igual que CL), y difiere significativamente respecto a CR, FL, FO, PG, PL, PO y PR ($p\text{-valor}<0,05$). En relación a este hecho, parece que las mezclas con astilla de chopo dan pérdidas por calcinación ligeramente inferiores respecto al resto de materiales, a excepción del valor de CR. El valor de PG continúa siendo el valor menor significativamente diferente del resto de mezclas con astilla de pino ($p\text{-valor}<0,05$). En cuanto a los valores superiores, destaca el de PR como valor máximo comparado con el resto de tratamientos ($p\text{-valor}<0,05$). Los valores de las mezclas de suelo y lodo de depuradora, al igual que al inicio del experimento, continúan siendo altos, si bien en FO el valor se reduce significativamente respecto a las pérdidas por calcinación iniciales en este tratamiento, aunque continúa siendo superior al valor de FL, si bien ya no difiere significativamente.

Por la comparación de los tratamientos control en cuanto a los resultados de carbono oxidable y de sólidos volátiles totales, se puede deducir que un 1,5% de pérdida de peso se debe a la materia orgánica nativa del suelo, por lo que queda un 2% aproximadamente que se debe atribuir a pérdidas de peso por volatilización de agua de cristalización y de otros minerales. Se debe tener en cuenta las posibles pérdidas de carbonatos que pueden producirse, si bien serían pequeñas ya que a 550°C la destrucción de carbonatos no suele ser importante. Los valores al final del bioensayo son ligeramente menores debido a la mineralización de la materia orgánica.

El resto de tratamientos dan pérdidas similares por calcinación, cercanas al 5%, lo que se corresponde mejor con las previsiones teóricas de haber aportado un 1% de carbono en forma de enmienda o biochar. Las características de cada tipo de enmienda en cuanto a su composición elemental (tabla 18), y sólidos volátiles totales (tabla 17) permiten explicar las diferencias encontradas.

La madera en general posee una gran proporción de sólidos volátiles en su estructura (tabla 17), como podemos deducir de la composición en C, H, O y N de la astilla de chopo y de pino (tabla 18). Ambas astillas presentan porcentajes de C<50% y elevadas cantidades de oxígeno e hidrógeno, lo cual es un indicio de la presencia de compuestos lábiles como la celulosa y hemicelulosa. Esto explicaría los valores superiores encontrados en pérdidas de estas materias primas al inicio del ensayo. La mineralización de una parte de la materia orgánica explicaría los valores menores al finalizar el experimento.

Tabla 18. Composición elemental de los biochar y materias primas (media±desviación estándar). La proporción de oxígeno se ha calculado por diferencia por lo que está sobrevalorada al incluir elementos minerales. Elaboración propia. Fuente: Sáenz. (2010). Véase códigos de los tratamientos en tabla 7.

Muestra	C	H	N	S	O	C:N
PO	47,5±0,01	5,9±0,03	<0,2	<0,2	45,5±0,1	238
CO	45,5±0,01	5,7±0,04	0,4±0,01	<0,2	47,7±0,1	106
FO	26,9±0,1	4,5±0,1	4,2±0,10	1,3±0,03	67,5±0,1	6,4
PR	71,7±0,1	3,4±0,1	<0,2	<0,2	23,9±0,01	330
CR	73,1±0,1	3,3±0,03	0,5±0,03	<0,2	22,6±0,1	359
PL	86,2±0,2	1,9±0,02	<0,2	<0,2	23,9±0,2	431
CL	81,0±0,1	2,1±0,02	0,6±0,0	<0,2	15,9±0,1	137
FL	22,3±0,03	0,8±0,1	2,5±0,01	1,2±0,02	75,8±0,1	9
PG	71,0±0,2	0,5±0,02	0,2±0,02	<0,2	27,4±0,2	355

En el caso de los lodos de depuradora, la materia orgánica presente no forma parte de una estructura compleja de moléculas como la madera, simplemente se encuentra adherida a las fracciones minerales y en su mayoría es muy termolábil; por eso, en un rango de 200-500 °C se consume, produciendo altas tasas de volatilización y gases (Ahuja *et al.* 1996, Shie *et al.* 2000). Ello explica el comportamiento de FO y FL en las pérdidas por calcinación, siendo mayores al principio en la materia prima y sufriendo posteriormente mayor mineralización a lo largo del bioensayo.

En el caso de los biochar producidos por pirólisis lenta, CL y PL tienen cantidades altas de SVT (tabla 17), pero las proporciones en C, O, H cambian respecto a sus materias primas (tabla 18). Las relativas bajas temperaturas y períodos de residencia mayores de la pirólisis lenta podrían explicar estos valores, ya que con esta tecnología se limita la transferencia de calor y no se permite un proceso de pirólisis completo, que sí se puede lograr a temperaturas mayores (Fassinou, 2009). De este modo la cantidad de SVT presente en estos materiales es alta y ello explica las elevadas pérdidas por calcinación. La mineralización de materia orgánica, mayor en CL, explica la menor pérdida por calcinación. Sin embargo, el comportamiento es diferente en el análisis de carbono orgánico oxidable (figura 15), lo que sugiere una mayor proporción de algún compuesto orgánico oxidable y volátil en estos tratamientos, especialmente en CL y FL.

Para las mezclas con materiales de pirólisis rápida (PR y CR), debido al efecto de las altas temperaturas alcanzadas en este proceso, se da una rápida descomposición de compuestos orgánicos volátiles como la celulosa y hemicelulosa, lo cual se aprecia en la caracterización de los materiales. Esto explica que en las mezclas iniciales las pérdidas por calcinación sean

ligeramente inferiores respecto a las mezclas de suelo y materiales de pirolisis lenta. Sin embargo, al finalizar el ensayo, los valores son superiores, lo que sugiere una menor mineralización de estos materiales. El comportamiento de PR al finalizar el experimento es difícil de explicar y sugiere una acumulación de materia orgánica.

El tratamiento procedente de gasificación (PG) parece desviarse a la baja respecto al resto de mezclas de suelo y biochar, por lo que sugiere que puede contener parte de carbono de tipo grafitico, dado que se trata de un biochar obtenido a elevada temperatura que no se descompondría fácilmente a 550 °C. Esto se refleja en la caracterización del material; a pesar de que el proceso de gasificación extrae una mayor cantidad de compuestos orgánicos del material, no deben corresponder a SVT sino otras fracciones más ligeras como ácidos orgánicos.

5.2. Evolución hídrica del cultivo

Las siguientes figuras (figuras 17, 18 y 19) muestran la tasa de evapotranspiración calculada en el seguimiento semanal del cultivo de *Hordeum vulgare*.

Como se puede observar, las pérdidas de agua fueron muy variables a lo largo de las 9 semanas de cultivo en invernadero, con mínimos de 2,2 mm/día y máximos de 5,7 mm/día. La semejanza en ET que se representa en la primera semana es una excepción en la evolución hídrica, comparado con el resto de semanas, en las que se observa mayor heterogeneidad en las pérdidas de agua en los diferentes tratamientos con cultivo de cebada.

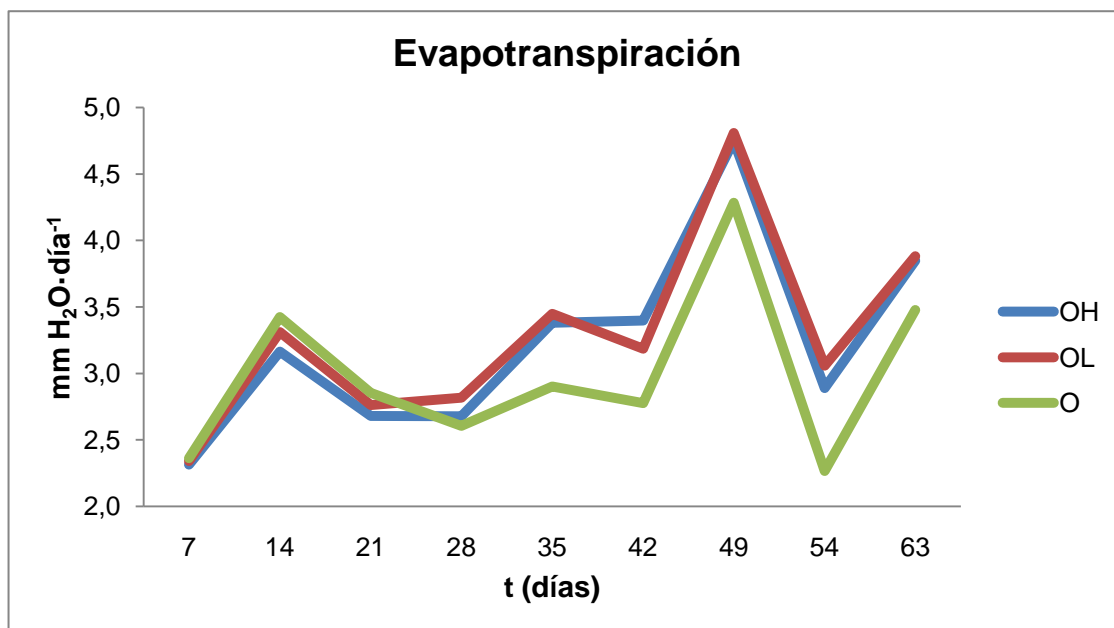


Figura 17. Tasa de evapotranspiración ($\text{mm}\cdot\text{día}^{-1}$) del cultivo de *Hordeum vulgare* en macetas llenas de un suelo control y dos tratamientos con diferente régimen de fertilización. Véase códigos en tabla 7. El período estudiado comprende desde la germinación hasta el segundo muestreo destructivo.

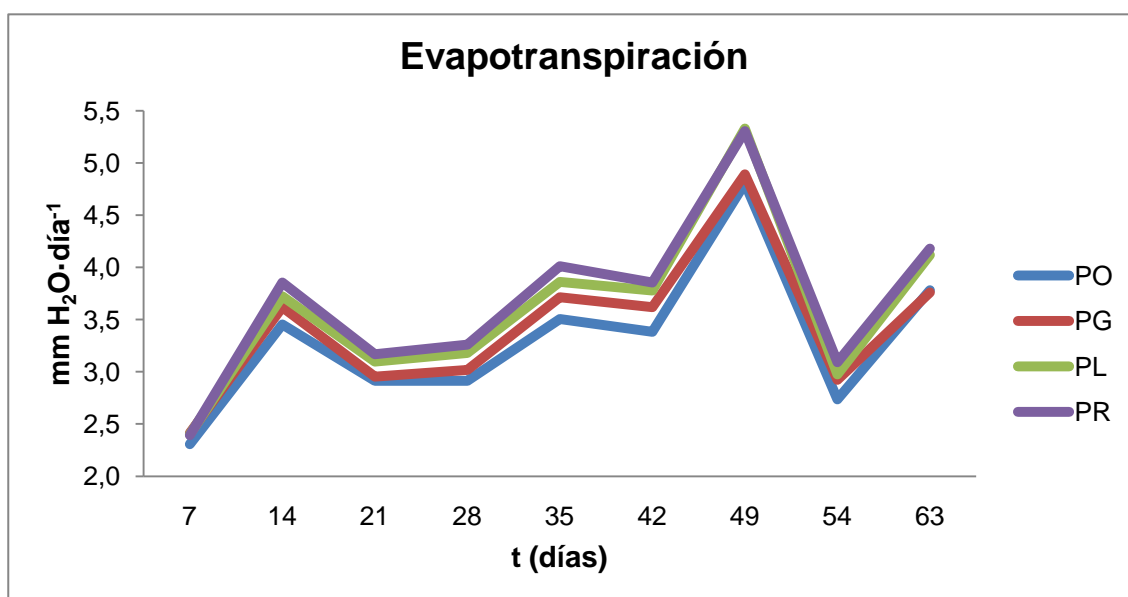


Figura 18. Tasa de evapotranspiración ($\text{mm}\cdot\text{día}^{-1}$) del cultivo de *Hordeum vulgare* en macetas llenas de una mezcla de suelo, fertilizante y enmiendas orgánicas de astillas de pino o los biochar procedentes de la pirólisis del material original. Véase códigos de los tratamientos en tabla 7. El período estudiado comprende desde la germinación hasta el segundo muestreo destructivo.

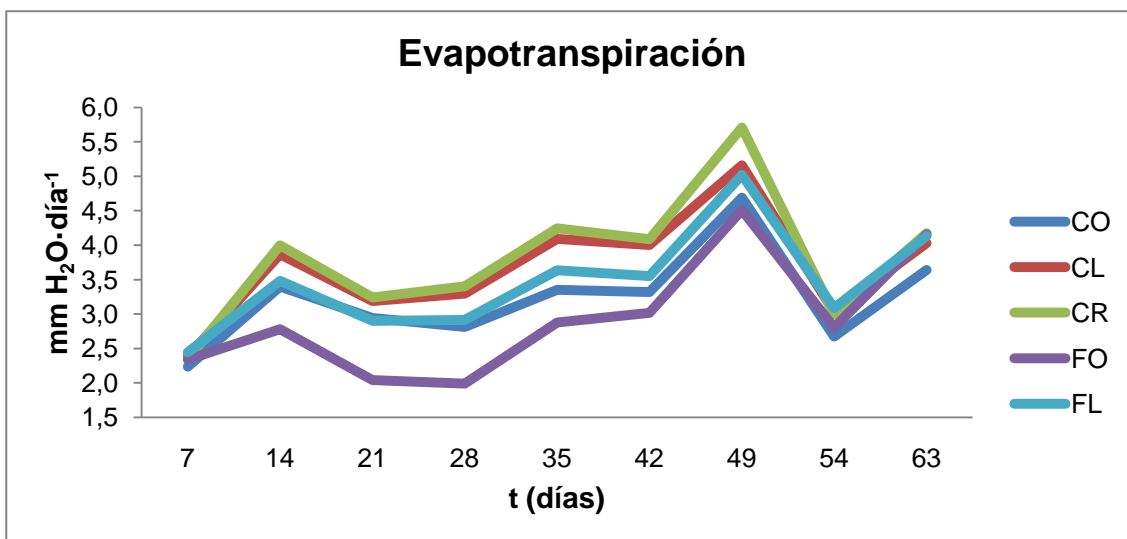


Figura 19. Tasa de evapotranspiración ($\text{mm}\cdot\text{día}^{-1}$) del cultivo de *Hordeum vulgare* en macetas llenas de una mezcla de suelo, fertilizante y enmiendas orgánicas de astillas de chopo y lodos de depuradora y los biochar procedentes de la pirólisis de los respectivos materiales originales. Véase códigos de los tratamientos en tabla 7. El período estudiado comprende desde la germinación hasta el segundo muestreo destructivo.

La absorción de agua por parte de la cebada a lo largo de su ciclo queda determinada por su coeficiente de cultivo³ (k_c , figura 20). La cebada, que es una especie resistente a la sequía, tiene mayores necesidades hídricas en las fases de desarrollo medias de la planta, comparado con el agua necesaria cuando la planta es adulta y próxima al agostamiento (López *et al.*, 2008).

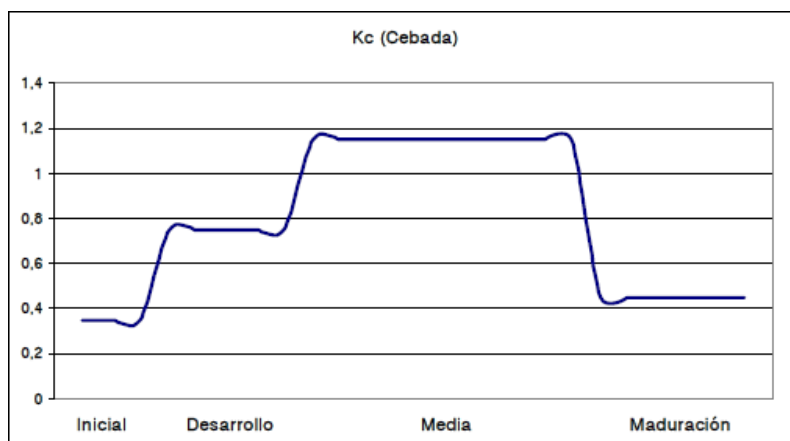


Figura 20. Coeficiente de cultivo de la cebada (k_c). Fuente: San José (2008)

Efectivamente, los datos de ET de la primera semana son los menores, ya que corresponden con la semana de germinación, y por tanto, menor necesidad hídrica. A partir de la segunda semana la ET aumenta de manera diferente según el tratamiento, de modo que no se observan valores inferiores de ET

³ En los cálculos de riego se denomina coeficiente de cultivo (k_c) a la relación entre las necesidades diarias de riego del cultivo (ET_c) y la evapotranspiración de referencia (ET_o). Se determina experimentalmente y no es constante durante las fases de desarrollo del cultivo. Los K_c que se divulgan en diferentes publicaciones (como los publicados por la FAO), pueden servir de guía, pero están calculados bajo condiciones locales y es necesario verificarse en función de las condiciones específicas de cada región para el cultivo o plantación en cuestión.

respecto a la primera semana de germinación, a excepción de FO y O, que sí presentan valores inferiores en semanas posteriores. A partir de los 28 días se repiten mínimos semanales en ET en el suelo base (O), los tratamientos con astillas de pino y chopo (PO y CO) y el lodo de depuradora (FO). Al finalizar el bioensayo, para FO la tendencia cambia llegándose a igualar las pérdidas de agua por ET con los representados en otros tratamientos del cultivo (figura 19), siendo destacable el cambio de tendencia en los días finales del bioensayo.

Se observan mayores tasas de ET en los tratamientos PG, PL, PR, CL y CR con biochar de pino y chopo, siendo ligeramente superiores los valores de los materiales de chopo (figuras 18 y 19), y los de pirólisis rápida comparados con los otros tipos de pirólisis.

Por último, cabe destacar que no se muestra una tendencia ascendente de ET según las diferentes semanas de cultivo ya que las tasas muestran cierta heterogeneidad a lo largo de las diferentes semanas.

La tasa de evapotranspiración puede utilizarse como indicador del desarrollo de un cultivo porque, como su nombre indica, representa las pérdidas de agua debidas a la actividad fotosintética de las plantas, aunque también puede ser importante la evaporación de agua desde el suelo, la cual está condicionada por el poder evaporante de la atmósfera y el grado de humedad del suelo. La transpiración se relaciona con la actividad fotosintética de las plantas que va asociada a la apertura de los estomas para la captura de CO₂. Gracias a la transpiración se produce la succión necesaria para la absorción de agua y nutrientes desde el suelo, por tanto puede servir para indicar el crecimiento del cultivo, aunque si la humedad del suelo no es la suficiente, puede producirse un estrés hídrico, que dependiendo del nivel de tolerancia de cada especie, puede ocasionar un límite a la supervivencia. La cebada, como la mayoría de las especies vegetales comerciales, pertenece a las denominadas plantas C3, las cuales tienen mayor pérdida de agua por transpiración que las denominadas plantas C4.

El seguimiento de la evapotranspiración en el bioensayo permite una discusión de los resultados a nivel general, según los datos semanales, e individual en función de los diferentes tratamientos. Por un lado, hay que tener en cuenta la época de realización del bioensayo en invernadero ya que la temperatura en el interior del mismo condiciona el estrés hídrico de la planta y la evaporación de agua desde el suelo. Esto explica los altos valores de ET encontrados entre los 42 y 49 días del cultivo. Indican que fue una semana muy calurosa, por tanto los valores sobrevaloran el estado de desarrollo y crecimiento que podría deducirse.

Por otro lado, como se ha comentado, el aumento en ET se puede relacionar con el desarrollo y crecimiento de las plantas. En este sentido, la 2ª semana, se produjo un desarrollo de las plantas (crecimiento de la primera y segunda hoja e inicio en la formación del tallo) que explica el aumento en los valores de evapotranspiración. La realización del aclareo en la plantación explica la reducción en los valores de ET en la 3ª semana. A partir de este momento, los valores aumentan o son muy parecidos durante la 4ª, 5ª y 6ª semana respectivamente, relacionándose con la evolución en el crecimiento de las plantas (formación de las sucesivas hojas, aparición de ahijados y engrosamiento y desarrollo del tallo).

La evolución de los datos en FO se explica por el retraso en el crecimiento y desarrollo de las plantas en este tratamiento comparado con el resto (figura 25). Efectivamente, en dichas plantas, al igual que en el caso de O, CO y algunas réplicas de FL pudo observarse un menor crecimiento (*ver apartado biomasa aérea*). Las plantas crecidas en FO sufrieron un desarrollo más retrasado (por ejemplo en la segunda semana todavía no habían formado la segunda hoja). La experiencia en campo dejó constancia visual de que los diferentes tratamientos con biochar de pino y chopo, así como PO presentaron un desarrollo y aspecto más vigoroso. El par de tratamientos control con fertilizante mineral (OH y OL) no destacaron ni por ser plantas adelantadas ni especialmente retrasadas, pero sí pudo observarse un menor crecimiento general.

Por último comentar que existieron otras variables que pueden alterar los datos de ET, como pudieran ser la existencia de eventuales lixiviados (CO fue el tratamiento que más lixivió), o bien la presencia de plagas como pulgón (en réplicas de PO, PR, O, OH, PL y CO) u oídio (en réplicas de FO, FL, CL y CR), que afectaron a algunas de las plantas y condicionaron eventualmente el desarrollo y crecimiento de algunas partes de las mismas.

5.3. Efectos en las plantas

5.3.1. Germinación

La siguiente figura muestra los resultados obtenidos durante el periodo de seguimiento de la germinación de las plántulas de *Hordeum vulgare*.

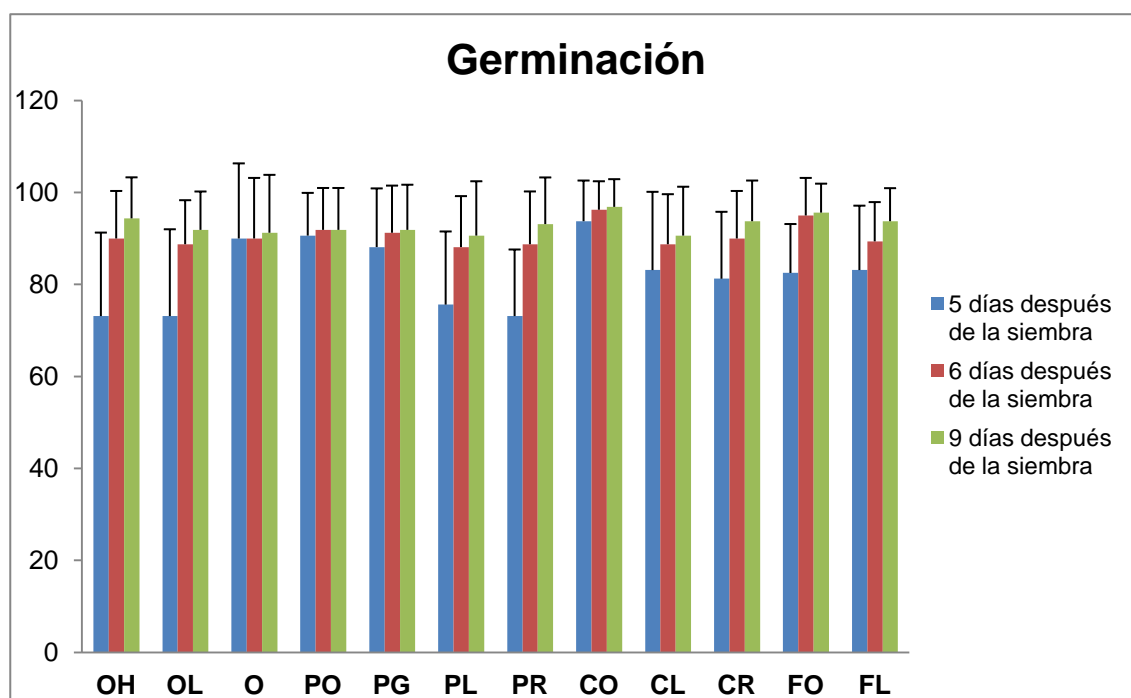


Figura 21. Evaluación de la germinación (%) de *Hordeum vulgare* en macetas llenas de un suelo tratado con varios tipos de biochar o sus respectivas materias primas, conteniendo todos ellos una dosis media de fertilizante mineral equivalente a la del tratamiento OL (OH, control con dosis doble de fertilizante mineral). Véase códigos de los tratamientos en tabla 7. Las barras en negro indican la desviación estándar.

En general, se observa una germinación final similar en todos los tratamientos, de aproximadamente un 90%. Si bien en la mayoría de los tratamientos se puede observar un aumento del porcentaje de germinación a lo largo del periodo evaluado, se aprecia una mayor rapidez en O, PO, PG y CO. También se observa una reducción de la desviación estándar, lo cual indica que la germinación se fue homogeneizando hasta alcanzar un valor final estable. Los tratamientos con biochar, especialmente PL y PR tardaron un poco más en germinar, presentando así un comportamiento similar al de los tratamientos OH y OL.

En resumen, según los datos de porcentaje final de germinación, se podría decir que, en las condiciones ensayadas, los distintos tipos de biochar o de fertilización no influyeron en la germinación final.

Los datos obtenidos después de 5 días del sembrado muestran mayor heterogeneidad comparado con los de los días posteriores, por tanto infravaloran la germinación. No obstante, es importante una evaluación comparativa, ya que indica la diferente velocidad de germinación, y por tanto, marca en los inicios de cultivo un crecimiento diferenciado, lo cual pudo comprobarse posteriormente con los datos de peso y longitud de las plántulas aclaradas, y puede relacionarse con lo comentado en el apartado 5.2.

5.3.2. Desarrollo inicial

5.3.2.1. Longitud de la primera hoja

La siguiente figura muestra los resultados de longitud media de la primera hoja al finalizar la primera semana de desarrollo de la plantación.

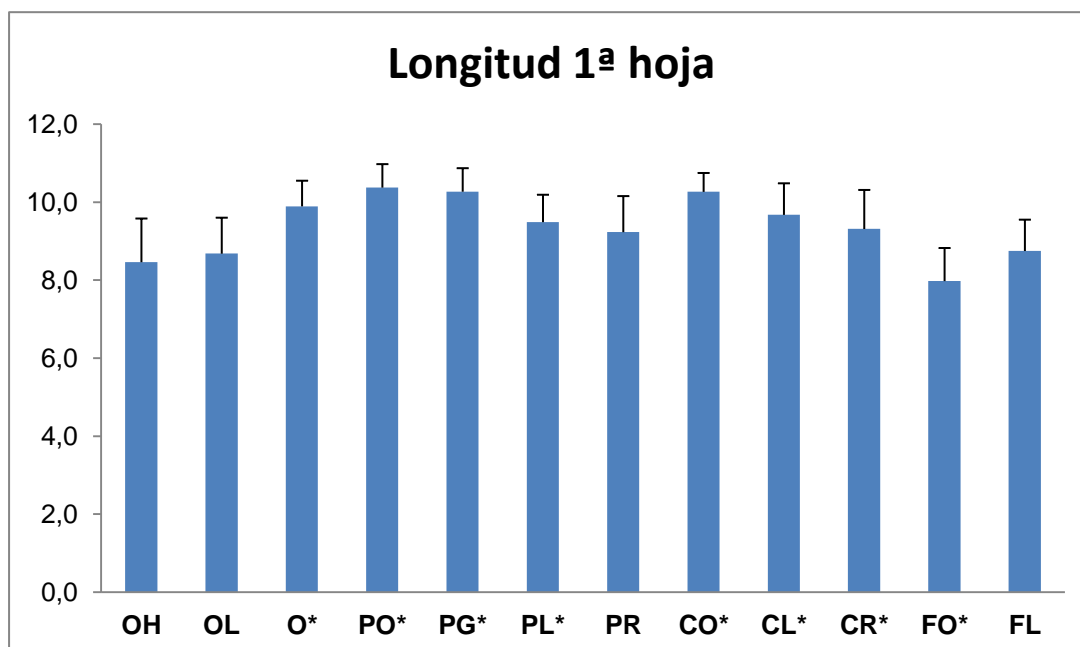


Figura 22. Valores medios de longitud (cm) de la primera hoja de plantas de *Hordeum vulgare* cultivadas en macetas llenas de un suelo tratado con varios tipos de biochar o sus respectivas materias primas. Véase códigos de los tratamientos en tabla 7. Se ha realizado un test ANOVA ($\alpha=5\%$, $p\text{-valor}<0,0001$). Tomando como referencia OL, se muestra en asterisco la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-valor}<0,05$) según el test de Fisher's PLSD.

Se pueden observar valores máximos de aproximadamente 10,5 cm en CO, PO y PG y valores mínimos en torno a 8 cm en FO y OH. Por tanto, las diferencias no son muy destacables. Pese a ser pequeñas, puede observarse que el suelo control (O) presenta mayor desarrollo inicial en longitud respecto a los tratamientos únicamente fertilizados (OH y OL). Los tratamientos de materiales no pirolizados (CO y PO) junto con PG son los que presentan mayor longitud de la primera hoja, a excepción de FO. En general, los tratamientos de biochar presentan longitudes similares, a excepción del lodo de pirólisis lenta, el cual presenta un valor más bajo y similar a OL.

No parece que la fertilización tenga un efecto significativo en el crecimiento inicial de las plantas, las cuales utilizan las reservas de las semillas. En relación a este hecho, sucedería lo mismo con el lodo de depuradora sin pirolizar, debido a su alto contenido en sales y nutrientes, y a una cierta inhibición por mayor salinidad.

5.3.2.2. Biomasa de plantas aclaradas

A continuación, se muestra en la siguiente figura los datos de peso seco de las plantas cortadas en el aclarado realizado al finalizar la segunda semana del bioensayo.

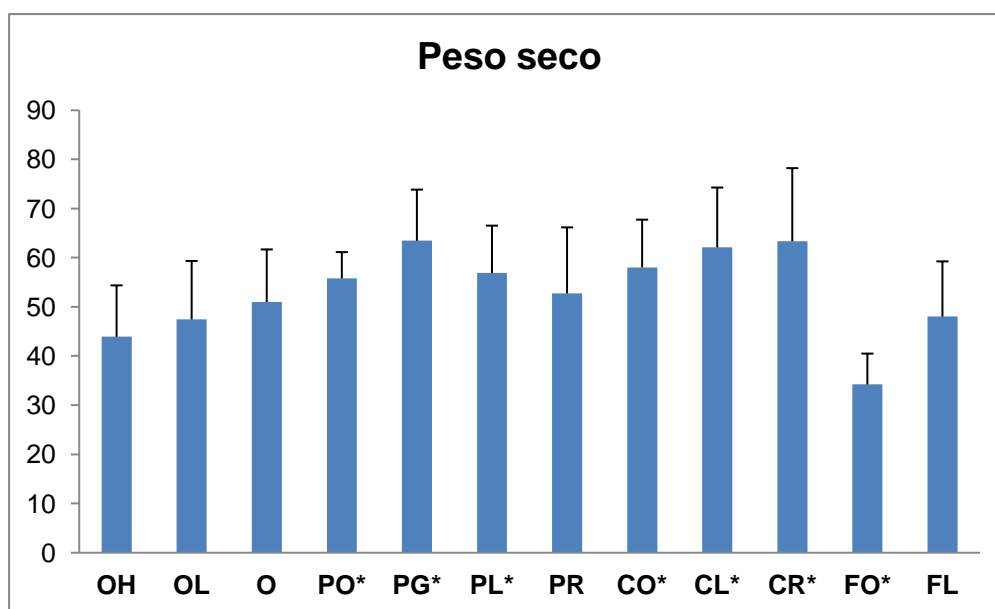


Figura 23. Valores medios del peso seco (mg/planta) de plantas de *Hordeum vulgare* aclaradas crecidas (14 días) en macetas llenas de un suelo tratado con varios tipos de biochar o sus respectivas materias primas. Véase códigos en tabla 7. Se ha realizado un test ANOVA ($\alpha=5\%$, $p\text{-valor}<0,0001$). Tomando como referencia OL, se muestra en asterisco la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-valor}<0,05$) según el test de Fisher's PLSD.

Como puede observarse, 8 de los 12 tratamientos presentan valores de entre 40 y 60 mg/planta. Los tratamientos OL y OH muestran un valor similar al del suelo base. Destaca como valor mínimo, el encontrado en el lodo de depuradora sin pirolizar. De hecho, presenta diferencias estadísticamente significativas con el resto de tratamientos. El tratamiento de lodo sometido a pirólisis lenta aporta un mayor valor respecto al material sin pirolizar, siendo muy parecido al valor de O y del suelo con régimen de fertilización al 50% (OL). No obstante, es el valor más bajo de los materiales pirolizados, los cuales presentan valores similares de entre 55 y 70 mg/planta. Únicamente PR presenta un valor un poco menor.

En la segunda semana de desarrollo del cultivo, no parece que la fertilización haya podido tener especial relevancia en el desarrollo de las plantas, sino más bien lo contrario. En el caso de FO, podría explicarse el menor desarrollo inicial debido al elevado contenido en sales, comunes en este tipo de material, y que podrían causar inhibición por salinidad o bien por alto contenido en sales

amoniacales (ver apartado de concentración de cationes y aniones solubles). Este efecto es menor en FL por el proceso de pirólisis lenta, en la que se produce la volatilización del amoníaco y oxidación de parte de estas sales (véase apartado de concentración de cationes y aniones solubles). El resto de tratamientos muestran mayor crecimiento. Los de chopo en forma de biochar (CR y CL) así como la astilla de pino sometida a gasificación (PG) presentan valores mayores, lo que parece indicar unas plantas más adelantadas en desarrollo. En el caso de PR, podría destacarse las diferencias significativas respecto a PG, CL y CR (p -valor $<0,05$). El menor valor podría deberse más bien a la naturaleza de la materia prima, que al tipo de pirólisis.

5.3.3. Biomasa aérea

5.3.3.1. Peso seco

Como se ha comentado en otros apartados, a lo largo del bioensayo se produjeron diferencias significativas en el crecimiento y desarrollo de las plantas. La siguiente figura muestra los valores de peso seco obtenidos en ambos muestreos destructivos.

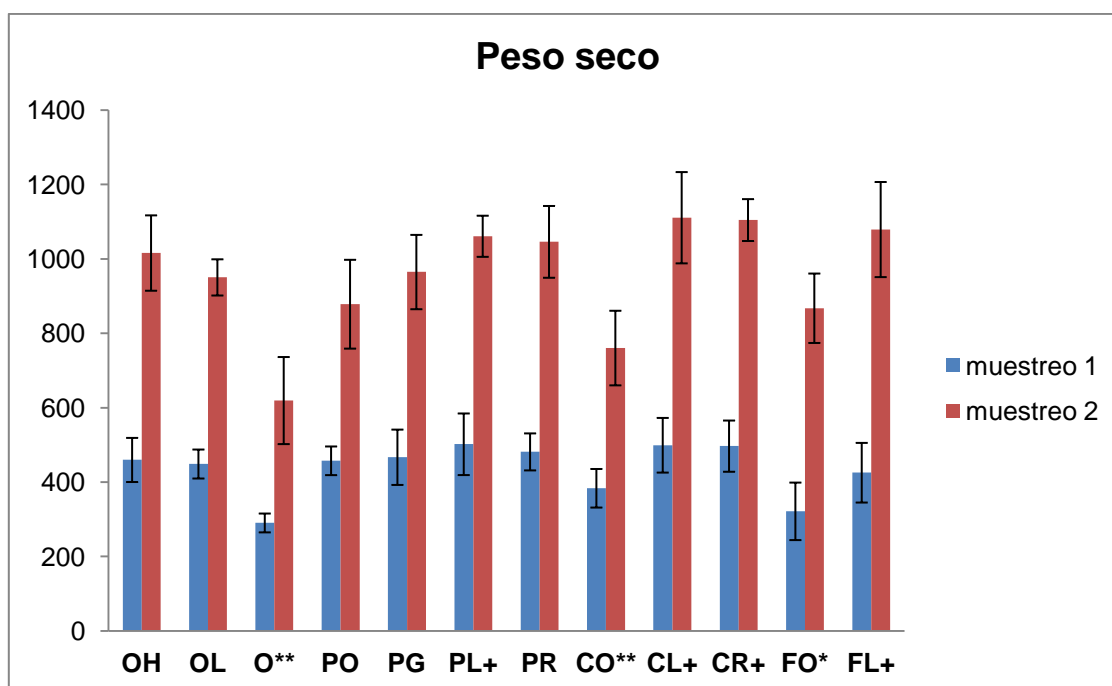


Figura 24. Valores medios del peso seco (mg/planta) de la parte aérea de las plantas de cebada cultivadas en macetas llenas de un suelo tratado con varios tipos de biochar o sus respectivas materias primas, en el muestreo 1 (42 días) y muestreo 2 (70 días). Véase códigos de los tratamientos en tabla 7. Se ha realizado un test ANOVA ($\alpha=5\%$, p -valor $<0,0001$). Tomando como referencia OL, se muestra las siguientes diferencias estadísticamente significativas (p -valor $<0,05$, test Fisher's PLSD): **, indica diferencias en ambos muestreos. *, indica diferencias en muestreo 1 +, indica diferencia en muestreo 2.

Las diferencias en biomasa son más aparentes al finalizar el ensayo. En ambas fases de desarrollo del cultivo, los tratamientos O, CO y FO presentan los valores menores, especialmente en el segundo muestreo donde CO y O presentan diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-valor}<0,05$) con el resto de tratamientos. En el caso de FO, ocurre de manera similar a CO y O en el muestreo 1, con diferencias significativas ($p\text{-valor}<0,05$) respecto al resto de tratamientos. En cambio, en el segundo muestreo aparecen diferencias estadísticamente significativas respecto a los tratamientos de pirólisis lenta y rápida, también respecto a O y CO, y el valor no difiere estadísticamente al de OL. El tratamiento PO, tiene un valor similar al de FO en el segundo muestreo, y difiere estadísticamente ($p\text{-valor}<0,05$) respecto al resto de tratamientos con biochar, a excepción de PG, el cual presenta un valor estadísticamente inferior ($p\text{-valor}<0,05$) respecto a CR, CL y FL.

Los tratamientos de pirólisis lenta y rápida son los que muestran los mayores valores de biomasa, siendo estadísticamente diferentes respecto a OL al finalizar el bioensayo, con la excepción de PR.

Únicamente al finalizar el bioensayo parece que la adición de enmiendas en forma de biochar conlleva una ligera mejora en el crecimiento y desarrollo de las plantas, comparado con la adición exclusiva de un fertilizante. Se nota claramente el efecto del aporte de fertilizante, aunque no el de la dosis del mismo, lo que sugiere que la dosis baja es ya suficiente para este cultivo. Se puede concluir que la reducción en la dosis de fertilizante para el cultivo ha significado un ligero aumento en la biomasa mediante la adición de enmiendas de tipo biochar producido mediante pirólisis lenta y rápida, y en ningún caso provoca inhibición la adición de biocarbones. Aún así, observando los datos podría decirse que el efecto indirecto de la enmienda orgánica sobre el desarrollo de las plantas es menor que el efecto directo de la fertilización mineral, el cual es clave en el desarrollo de las plantas, y ello explicaría el valor bajo del suelo base no abonado. En el caso de CO, la explicación se debe posiblemente a la pérdida de nutrientes por lixiviación, ya que junto con O, fueron los tratamientos que mayores pérdidas presentaban en los riegos. También el efecto de “hambre de nitrógeno” provocado por la alta relación C:N de las astillas es notable (*ver tabla 18 en sólidos volátiles totales*). Este hecho genera inmovilización de nutrientes en las astillas, que también puede explicar la depresión del crecimiento en CO. De igual modo, aunque en menor grado, podría ser la respuesta a la tendencia de disminución en el valor de PO, por la carencia en algún tipo de nutriente.

En el caso de FO, la inhibición relativa inicial (figura 25) se puede explicar por la mayor salinidad en este tratamiento (*véase apartado salinidad del suelo*). Sin embargo, destaca la tendencia final de mayor desarrollo, que se explicaría por la mayor disponibilidad de nutrientes para las plantas al finalizar el bioensayo.



Estos nutrientes se liberan en el suelo debido a la importante mineralización de la materia orgánica que ha sufrido este material a lo largo del bioensayo (*ver apartado de concentración de cationes y aniones solubles*), generando un efecto fertilizante a medio plazo. Además, la planta de cebada, es menos sensible a la salinidad, cuanto más desarrollada está.

Figura 25. Desarrollo de plantas de *Hordeum vulgare* durante la cuarta semana de crecimiento, en las mezclas de suelo y enmiendas orgánicas de los tratamientos CR, FO y FL. Véase códigos en tabla 7.

5.3.3.2. Producción- cosecha

La siguiente figura muestra los valores de peso seco de las espigas de plantas de cebada al finalizar el bioensayo.

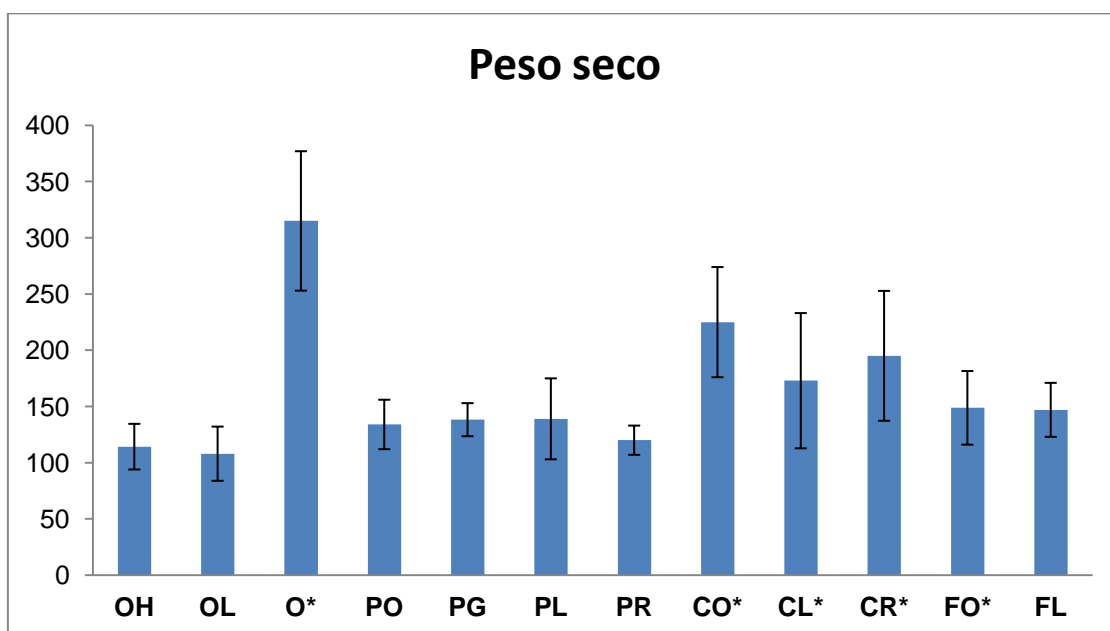


Figura 26. Peso seco medio (mg/espiga) de las espigas de plantas de cebada cultivadas en macetas llenas de un suelo tratado con varios tipos de biochar o sus respectivas materias primas. Véase códigos de los tratamientos en tabla 7. Las barras en negro indican la desviación estándar. Se ha realizado un test ANOVA ($\alpha=5\%$, $p\text{-valor}<0,0001$). Tomando como referencia OL, un asterisco muestra diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-valor}<0,05$, test Fisher's PLSD)

El suelo control es el que presenta mayor peso seco de espiga en comparación al resto de tratamientos, siendo estadísticamente diferente ($p\text{-valor}<0,05$). No obstante, es el tratamiento que contiene menor número de granos por espiga (tabla 19). Los valores del resto de tratamientos son similares y no se observan diferencias significativas, si bien los tratamientos de suelo fertilizado son ligeramente inferiores. Diferente es el caso de los tratamientos que contienen madera de chopo, los cuales presentan valores superiores al resto. La biomasa de chopo (CO), difiere significativamente ($p\text{-valor}<0,05$) del resto de tratamientos, a excepción de CR, el cual difiere ($p\text{-valor}<0,05$) de todos excepto de CL. Para el chopo de pirólisis lenta no hay tantas diferencias significativas, únicamente respecto a OH, OL y PR. Esta similitud con el resto de tratamientos también se observa en el número de granos por espiga (tabla 19), de los que CO, es al igual que O, el tratamiento con menor número de granos.

Tabla 19. Número de granos por espiga de cebada (media \pm desviación estándar)

Tratamiento	nº granos / espiga
OH	18 \pm 1
OL	17 \pm 1
O	14 \pm 1
PO	17 \pm 1
PG	18 \pm 0,0
PL	18 \pm 1
PR	18 \pm 1
CO	17 \pm 2
CL	18 \pm 1
CR	19 \pm 1
FO	17 \pm 1
FL	18 \pm 1

Primeramente, se debería comentar que los datos presentados demuestran que al acabar el ensayo, el cultivo de cebada no estaba lo suficientemente maduro y seco para semejar unos valores de cosecha aproximados a la realidad (González, 2001). Según López (2000), para obtener unos datos comparables a la realidad hubiese sido necesario permitir a la planta su agostamiento completo, hasta tener unas espigas completamente desarrolladas y secas, esto es cuando el grano está en torno al 10-12% de humedad. Sin embargo, este estado del cultivo no hubiese permitido cuantificar otros parámetros que se presentan en este trabajo y que se consideraron prioritarios. En resumen, deberían entenderse estos datos como comparativos del tipo de desarrollo que presentaban las plantas y no como indicativos de la cosecha.

Las plantas de los tratamientos CO y O fueron siempre las más adelantadas en desarrollo, de hecho eran las más agostadas en el segundo muestreo, esto explica los valores superiores en peso seco. Como se muestra en la tabla 20,

probablemente la composición era parecida a la de una espiga con granos más maduros, es decir, menor contenido en agua. No obstante, eran plantas de menor crecimiento (*ver apartado biomasa aérea*), y ello explica los valores inferiores en granos de cereal pese a ser plantas adelantadas. Siguiendo el mismo argumento, las plantas de los tratamientos que contenían biochar de chopo eran ligeramente adelantadas en desarrollo al resto. Cabría esperar que los datos finales hubiesen sido parecidos al del resto de enmiendas orgánicas y superiores al peso seco medio de O, una vez las espigas hubiesen madurado y perdido contenido en agua en favor de otros compuestos (tabla 20).

En cuanto al número de granos, podría decirse que los datos son representativos del estado final, en cuanto a que la estructura de la espiga ya estaba formada al finalizar el ensayo, aunque su tamaño y peso probablemente hubiesen aumentado. A nivel general, son valores bajos comparados con la bibliografía consultada (*González, 2001*).

Tabla 20. Composición del grano de cebada maduro e inmaduro. Elaboración propia, fuente: infoagro.com

Composición del grano de cebada por 100 g de sustancia			
Maduro		Inmaduro	
Proteínas	10	Proteínas	2,5
Materia grasa	1,8	Materia grasa	0,5
Hidratos de carbono	66,4	Hidratos de carbono	8,8
Celulosa	5,2	Celulosa	5,6
Materias minerales	2,6	Materias minerales	1,7
Agua	14	Agua	80,9

5.3.4. Sistema radicular

5.3.4.1. Biomasa de las raíces

La siguiente figura muestra el peso seco de las raíces del conjunto de 5 plantas obtenidas durante la realización de ambos muestreos.

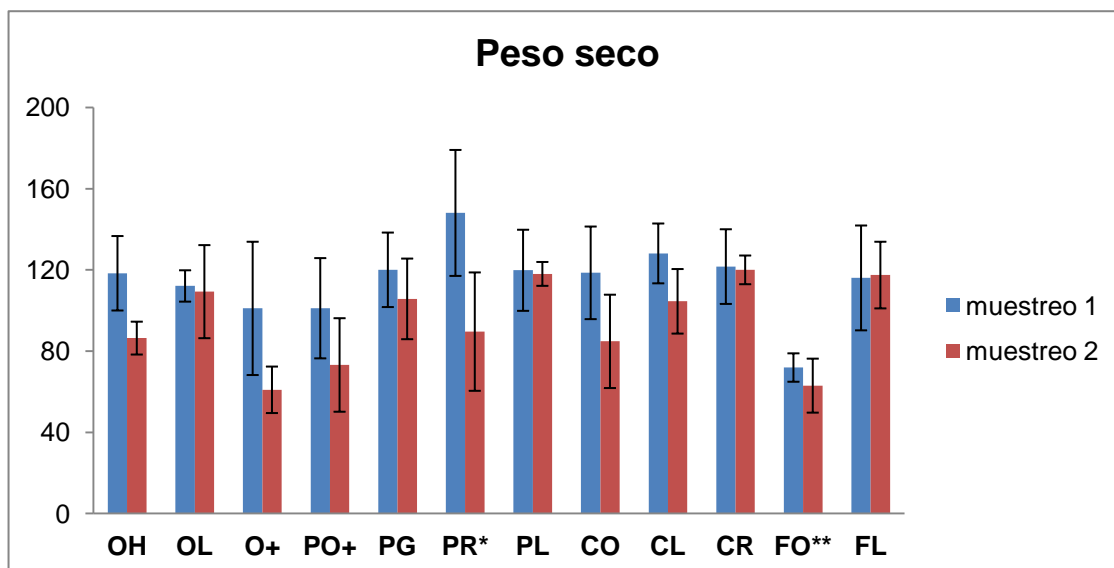


Figura 27. Biomasa de raíces (mg/planta) de las plantas de cebada cultivadas en macetas llenas de un suelo tratado con varios tipos de biochar o sus respectivas materias primas, en el muestreo 1 (42 días) y muestreo 2 (70 días). Véase códigos de los tratamientos en tabla 7. Se ha realizado un test ANOVA ($\alpha=5\%$; p-valor= 0,0087 muestreo 1, p-valor<0,0001 muestreo 2). Tomando como referencia OL, ** muestra diferencias estadísticamente significativas (p-valor<0,05, test Fisher's PLSD) en ambos muestreos, * indica diferencias en el muestreo 1 y + indica diferencias en el muestreo 2.

En todos los tratamientos se observa una biomasa de raíces menor o igual en el segundo muestreo respecto al primero.

Observando los datos referentes al primer muestreo se deduce que la biomasa de raíces es muy parecida en todos los tratamientos que fueron fertilizados, a excepción de FO, el cual difiere significativamente (p-valor<0,05) del resto de tratamientos, a excepción del suelo base (O). El valor mayor se observa en PR, el cual difiere significativamente (p-valor<0,05 respecto a OL, O, PO y FL). Como se ha comentado, es estadísticamente significativa la diferencia en biomasa radicular del lodo de depuradora sin pirolizar respecto a dicho material en forma de biochar. De igual forma, se produce dicha diferencia cuando la planta ha espigado y ha empezado su agostamiento. En cuanto al resto de materiales, no se han encontrado diferencias significativas comparando con el suelo control a igual régimen de fertilización (OL).

Al finalizar el bioensayo se observa una disminución generalizada de la biomasa radicular que en el caso del suelo control (O) es estadísticamente significativa (p-valor<0,05) respecto a OH, OL, PG, PL, PR, CL y FL; igualmente ocurre con PO, CO y FO. Para la materia prima de pino la reducción es notable y su valor difiere significativamente (p-valor<0,05) respecto a OL, PG, PL, CL, CR y FL. Similar es el caso para la mezcla de suelo y astilla de chopo. La reducción en el valor de FO no es tan marcada, pero su

valor bajo difiere ($p\text{-valor}<0,05$) respecto a OL, PG, PL, PR, CL, CR y FL. Es curioso el caso de PR, en el que el valor de biomasa se reduce significativamente al finalizar el ensayo, siendo el valor menor de los tratamientos con biochar. Por el contrario, los valores más altos se dan en PL, CR, CL y FL. El primero difiere significativamente ($p\text{-valor}<0,05$) respecto a PR y CO. CR difiere ($p\text{-valor}<0,05$) respecto a O, OH, PR y CO. En el caso del lodo de pirólisis lenta (FL) difiere significativamente respecto a OH y PR. Destaca la reducida variabilidad de los valores de PG, PL, CL, CR y FL, siendo muy parecidos al comportamiento de OL.

La reducción del valor de biomasa radicular al finalizar el ensayo se explicaría debido al desarrollo normal de la planta (la planta adulta pierde las raíces primarias en favor de la formación de raíces secundarias), y al procedimiento de muestreo mediante tamiz que selecciona las raíces mayores o más largas. En este sentido se explican los valores menores encontrados en O, PO y CO al finalizar el ensayo, ya que las plantas de estos tratamientos estaban más adelantadas en desarrollo y próximas al agostamiento.

Según la bibliografía, la adición de biochar implica un estímulo de la biomasa radicular y el desarrollo de la zona del meristemo (*Makoto et al., 2010*). Por el contrario, las razones de este estímulo no están muy identificadas, y dependen mucho de las propiedades del biochar, así como del ambiente del suelo que favorece el desarrollo de la biomasa radicular y de la planta en general, como son: la disponibilidad de nutrientes, la WHC, el pH o la aireación del mismo (*Lehmann et al., 2011*).

Analizando la similitud en los valores de biomasa radicular del presente ensayo respecto al control OL en ambos muestreos, no parece que el aporte de los distintos tipos de biochar haya permitido una mayor formación de raíces, siendo la adición de fertilizante mineral la enmienda más destacable. La variabilidad de datos del muestreo 2 podría explicarse por el diferente estado de madurez de las plantas en cada tratamiento.

Por otra parte, sí parece destacable el efecto inhibitor del lodo de depuradora en ambos muestreos, lo cual indica un efecto de estrés salino o tóxico (*ver apartado root/shoot*) de este material en las raíces, debido quizás a la presencia de amonio, metales pesados u otros compuestos orgánicos o inorgánicos (*Lehmann et al., 2011*). Este efecto no se observa en el lodo sometido a pirólisis.

5.3.4.2. Relación raíces: parte aérea (root/shoot)

La siguiente figura muestra los valores de la ratio biomasa radicular/biomasa aérea, encontrados:

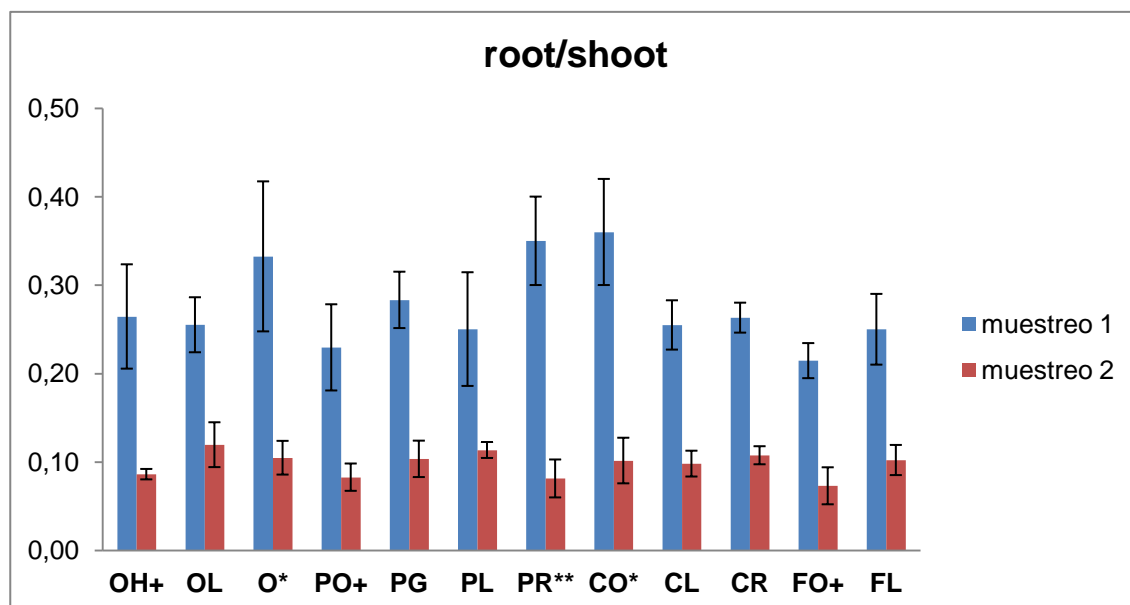


Figura 28. Valores medios de ratio biomasa radicular/biomasa aérea de plantas de cebada cultivadas en macetas llenas de un suelo tratado con varios tipos de biochar o sus respectivas materias primas, en el muestreo 1 (42 días) y muestreo 2 (70 días). Véase códigos de los tratamientos en tabla 7. Se ha realizado un test ANOVA ($\alpha=5\%$, p-valor= 0,0041 muestreo 1, p-valor=0,0237 muestreo 2). Tomando como referencia OL, se muestran la existencia de diferencias estadísticamente significativas (p-valor<0,05, test Fisher's PLSD) como: ** muestra diferencias en ambos muestreos, * indica diferencias en el muestreo1 y + indica diferencias en el muestreo 2.

Se puede observar que los valores son menores y similares entre sí al finalizar el cultivo, momento en el que destaca el valor más alto de OL, y el valor bajo de FO, que difiere significativamente (p-valor<0,05) de O, PL, PG, CO, CR y FL. Es destacable el valor bajo de PR, diferente (p-valor<0,05) respecto a PL, CR y OH, ya que muestra un comportamiento diferente al primer muestreo, en el que era de los valores más altos de los diferentes tratamientos. También el valor bajo de PO difiere (p-valor<0,05) respecto a PL.

En el primer muestreo, se observa mayor variabilidad. Destacan como valores altos O, PR y CO, existiendo diferencias significativas (p-valor<0,05) de estos tratamientos respecto a OL, PL, PO, CL, FL y FO, también respecto a CR y OH en PR y CO. En cuanto a los valores más bajos, se observan las ratios de PO y FO.

El aumento de la biomasa aérea al finalizar el ensayo (*ver apartado de biomasa aérea*) explica los valores menores encontrados en el segundo muestreo.

Las diferencias entre tratamientos dentro de cada muestreo son más difíciles de interpretar. Según la bibliografía, la disminución de la ratio raíz/parte aérea indica mayor capacidad de absorción de nutrientes desde el suelo, lo que sugiere una menor necesidad de raíces para mantener la misma producción de biomasa superficial (*Wilson, 1998, Lehmann et al., 2011*). Esto podría explicar los valores de OH, OL, PO, PG, PL, CL, CR y FL en el primer muestreo. El valor menor de la ratio de FO en ambos muestreos no se explica por una mayor cantidad de biomasa (*ver apartado de biomasa aérea*), lo cual sugiere un efecto tóxico-inhibidor en el desarrollo radicular (*ver apartado de biomasa radicular*). Por el contrario, ratios mayores indicarían mayor desarrollo de biomasa radicular, o bien menor desarrollo de biomasa aérea. El primer caso se asocia a plantas sanas; el aumento de la biomasa radicular y aérea puede explicarse por neutralización de un mecanismo inhibidor del desarrollo radicular (*Inderjit y Callaway, 2003*). En el segundo caso, un aumento de la ratio sin mayor desarrollo de biomasa aérea se puede atribuir a una menor capacidad de absorción (*Lehmann et al., 2011*). Este último aspecto podría explicar los valores altos de CO y O del primer muestreo, que se relacionaría con la menor biomasa de las plantas cultivadas en estas mezclas de suelo (*ver apartado de biomasa aérea*).

5.3.4.3. Biomasa microbiana- micorrización

La tabla 21 muestra los resultados del análisis realizado para observar la colonización de las raíces por micorrizas en las plantas de cebada y la presencia de otros hongos en el suelo, al finalizar el ensayo.

Los bajos valores obtenidos del análisis de micorrizas realizado, no permitieron un análisis cuantitativo de la aparición de dichas estructuras simbióticas. Es por ello que se muestran resultados cualitativos. Parece que CO y PL desarrollaron más micorrizas en sus raíces, pero en ningún caso son cuantificables, por tanto comparables dichos valores. De igual manera, la no aparición de micorrizas en OH, PR, CL, FO y FL no sería significativo. La misma situación se muestra para la presencia de otro tipo de hongos en las raíces. Parece que en CR es donde mayor presencia de hongos existe en las raíces.

Tabla 21. Valores cualitativos de la presencia de micorrizas y otros hongos en plantas de cebada crecidas en un suelo tratado con varios tipos de biochar o sus respectivas materias primas, al finalizar el ensayo. Elaboración propia, fuente: Pilar Andrés (comunicación personal)

Tratamiento	Presencia de micorrizas (% respecto a réplicas)	Presencia de otros hongos	
		% respecto a réplicas	abundancia
OH	0	25	2
OL	25	25; 50	2; 1
O	25	25	1
PO	25	50	1
PG	25	25; 25	1; 2
PL	50	50	1
PR	0	50	1
CO	50	0	0
CL	0	50	1
CR	25	50; 25	2; 1
FO	0	25	1
FL	0	50; 25	1; 2

La presencia de micorrizas está evaluada sobre el número de réplicas de cada tratamiento (n=4 fueron las réplicas muestreadas) en el que están presentes. Igualmente se ha evaluado la presencia de otro tipo de hongos (1= muy poca abundancia; 2= presencia en más de 3 raíces) sobre 4 réplicas de cada tratamiento. Véase códigos de los tratamientos en tabla 7.

Como se ha comentado, los escasos valores de tejido fúngico encontrado en las raíces analizadas no han permitido realizar un estudio cuantitativo de la colonización de hongos en las raíces. El análisis cualitativo refleja escasas diferencias que no permiten la obtención de conclusiones. A su vez, buena parte de los hongos no micorrízicos encontrados deben de ser saprófitos (figura 30) porque aparecen con frecuencia sobre las raíces muertas, aunque también hay algunos en el interior de las raíces vivas.

Era de esperar que hubiese un aumento de la presencia de micorrizas (figura 29) en algunos tratamientos. Así, la bibliografía reporta aumento en la colonización de raíces por micorrizas de tipo arbuscular y ectomicorrizas tras el aporte de biochar (*Warnock et al., 2007, Makoto et al., 2010*). Los mismos estudios encontraron también reducción en la formación de micorrizas de tipo arbuscular debido al incremento de la disponibilidad de nutrientes para las plantas, generado por la adición de biochar. También suele relacionarse con la alta disponibilidad en P, la alta salinidad o la presencia de metales pesados (características frecuentes de los lodos de depuradora).

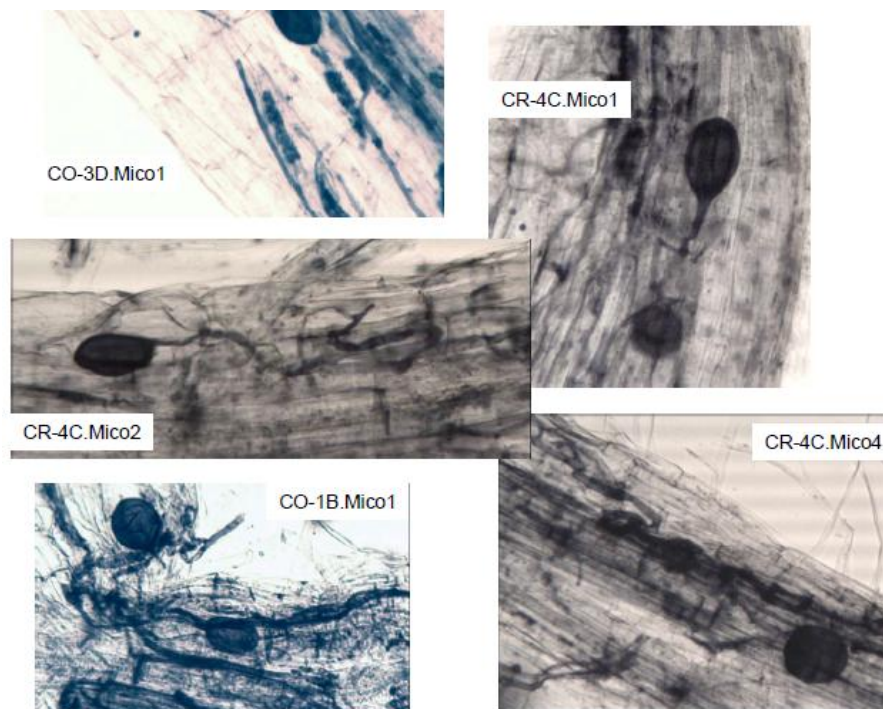


Figura 29. Colonización de raíces por hongos micorrízicos en plantas de cebada crecidas sobre un suelo con una enmienda de biochar producido a partir de astillas de chopo por pirólisis rápida (CR) y la enmienda del material original (CO). Imágenes obtenidas mediante microscopía óptica. Fuente: Pilar Andrés.

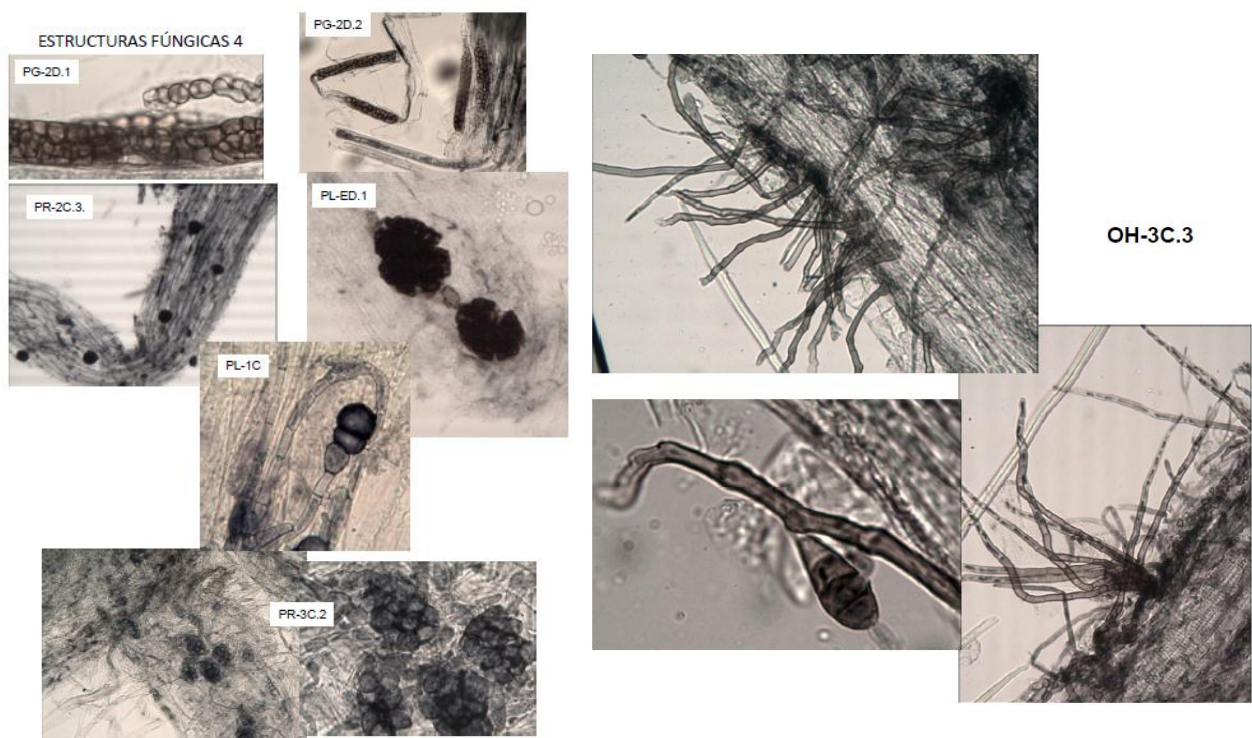


Figura 30. Colonización de tejido fúngico sobre raíces de plantas de cebada crecidas sobre un suelo con una enmienda de biochar producido a partir de astillas de pino por pirólisis rápida (PR), lenta (PL) y gasificación (PG) junto con una dosis de fertilizante mineral. OH representa la colonización de las raíces de las plantas de cebada crecidas en un suelo al cual se ha aplicado una dosis más elevada de fertilizante mineral. Imágenes obtenidas mediante microscopía óptica. Fuente: Pilar Andrés.

Los valores bajos de micorrizas obtenidos podrían explicarse por el aporte de un fertilizante mineral en el ensayo. La adición de fertilizantes minerales reduce la mejora que puede producir el biochar en la formación de micorrizas y en la colonización de otro tipo de hongos (*Steiner et al., 2009, Blackwell et al., 2010*). El efecto depende del tipo de fertilizante añadido y del tipo de microorganismo. Dichos estudios suelen relacionar la fertilización con P y altas cantidades de N con la reducción en la presencia de micorrizas.

5.3.5. Pigmentos fotosintéticos

En la figura siguiente se muestra la concentración de clorofilas, y carotenos en las hojas de las plantas crecidas en los diferentes tratamientos.

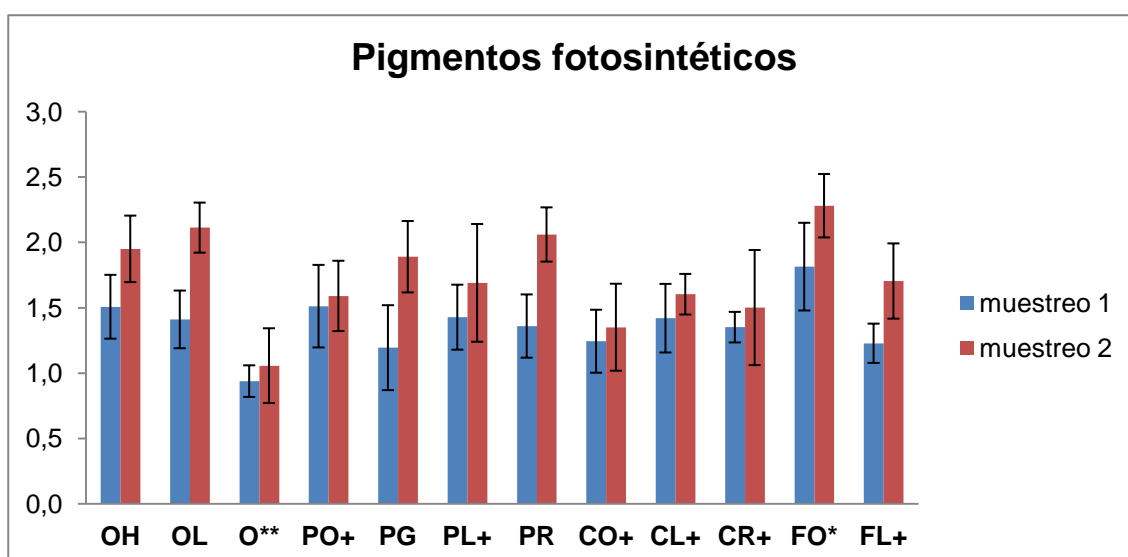


Figura 31. Concentración (mg/g de peso fresco) de pigmentos fotosintéticos (clorofila a, clorofila b y carotenos) en hojas de plantas de cebada cultivadas en macetas llenas de un suelo tratado con varios tipos de biochar o sus respectivas materias primas, en el muestreo 1 (42 días) y muestreo 2 (70 días). Véase códigos de los tratamientos en tabla 7. Se ha realizado un test ANOVA ($\alpha=5\%$, $p\text{-valor}<0,0001$). Tomando como referencia OL, se muestran diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-valor}<0,05$, test Fisher's PLSD) mediante: ** en ambos muestreos, * en el muestreo 1 únicamente, y + en el muestreo 2.

En todos los tratamientos se puede observar que la concentración de pigmentos fotosintéticos es mayor al finalizar el ensayo, siendo significativo en PG, PR, OL y FL. Por otro lado, se observa un incremento muy bajo en O, CO y PO.

En el primer muestreo, destaca el valor alto de FO y al contrario para el tratamiento control sin fertilizante (O), siendo ambos valores estadísticamente

diferentes al resto ($p\text{-valor}<0,05$). Los demás valores son muy similares entre sí y no aparecen diferencias respecto al tratamiento control (OL), solamente destacan las siguientes diferencias significativas ($p\text{-valor}<0,05$): OH y PO con valores más altos respecto a CO, FL y PG, tratamientos que tienen unos valores más bajos, especialmente el del pino de gasificación.

En el segundo muestreo se repite la situación del primero, siendo FO el tratamiento con mayor concentración de pigmentos, y el menor el tratamiento control sin fertilizante (O). La materia prima del lodo de depuradora difiere significativamente ($p\text{-valor}<0,05$) de todos los tratamientos a excepción de OL y PR. El tratamiento O difiere respecto al resto de tratamientos excepto CO y CR. Parece que los valores de los tratamientos con biochar de astillas de pino y la respectiva materia prima son ligeramente superiores a los tratamientos de astillas de chopo. En este sentido, se han encontrado diferencias significativas ($p\text{-valor}<0,05$) en PG respecto a CO y CR, PL respecto a CO y especialmente en PR como valor alto, respecto a CL, CO, CR e incluso a PL y PO. Por otra parte, destacan también los valores altos de los controles fertilizados (OH y OL), que en el caso de OL implica la existencia de diferencias significativas respecto a algunas enmiendas (figura 31).

El efecto de la fertilización permite realizar una primera explicación de los resultados, y permite entender el valor menor de concentración de pigmentos del tratamiento control sin fertilizante (O) en ambos muestreos del experimento, así como la similitud de valores en el primero. Como era de esperar, la fertilización está relacionada con la capacidad de las plantas de producir pigmentos fotosintéticos, pues elementos como el nitrógeno o el magnesio son la base para la formación de estas moléculas. Siguiendo esta argumentación, se explica el valor más alto de pigmentos en la mezcla de suelo y lodo sin pirolizar (FO), debido a la elevada concentración en nutrientes de este material en comparación con el resto (*ver apartado concentraciones de cationes y aniones solubles*). El comportamiento del tratamiento con biochar de lodo (FL) se puede explicar por la importante pérdida de nitrógeno de los lodos en el proceso de pirólisis.

La concentración de pigmentos fue mayor en el segundo muestreo, cuando las plantas habían alcanzado su mayor desarrollo, y por tanto mayor producción de pigmentos. Pese a que los tratamientos con biochar de madera fueron mejores que sus respectivas materias primas, se ha encontrado un ligero efecto depresivo en CL, CR, FL y PL al finalizar el bioensayo en relación al control (OL), en cualquier caso con mayor significación en los materiales de chopo. La relación entre pigmentos fotosintéticos y biomasa aérea en el muestreo 2 permite explicar algunos hechos, ya que la depresión en los valores de pigmentos de estos tratamientos no se relaciona con una menor biomasa en dichos tratamientos (figura 32). También, el elevado valor de concentración de

pigmentos en FO no se corresponde con una elevada biomasa (figura 32), hecho que también se produce en el primer muestreo para el caso del lodo de depuradora.

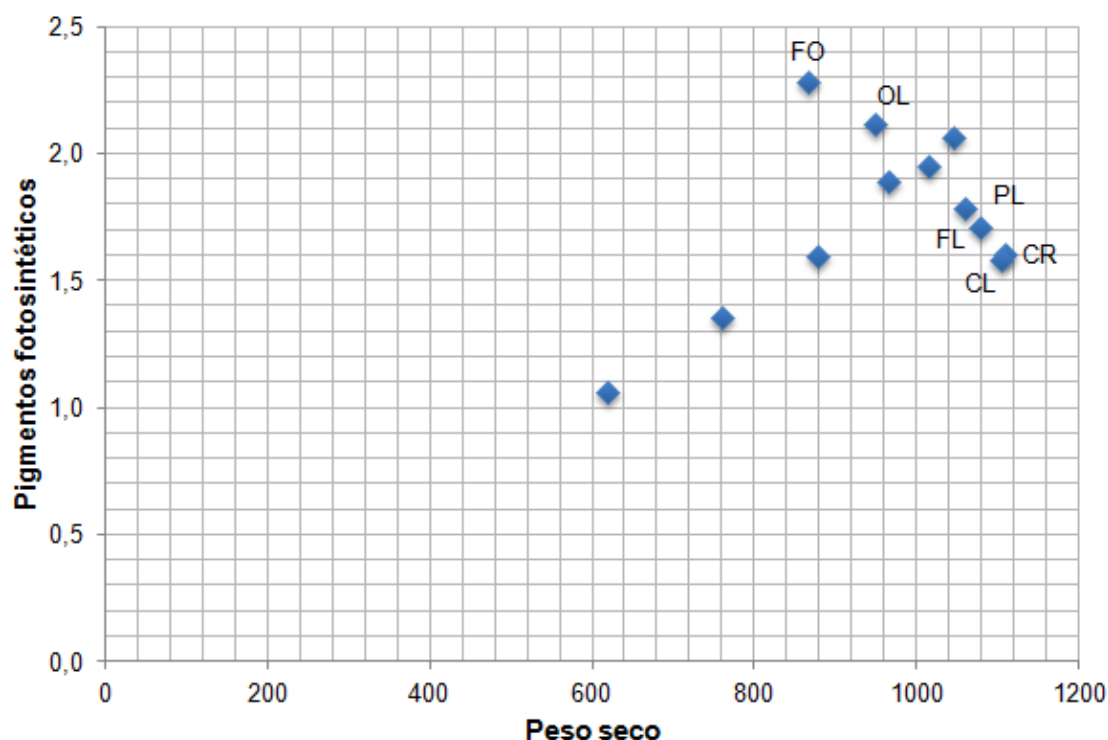


Figura 32. Relación entre el peso seco de la biomasa aérea (mg/planta) y la concentración de pigmentos fotosintéticos (clorofilas a, b y carotenos) en mg/g PF al finalizar el bioensayo en las plantas de cebada cultivadas en macetas llenas de un suelo tratado con varios tipos de biochar o sus respectivas materias primas.

Se puede observar una tendencia lineal ascendente en los tratamientos O, CO, PO, PG, OH y PR, es decir, mayor concentración de pigmentos se ha traducido en mayor biomasa. Por el contrario, se observan puntos que se salen de esta tendencia e indican por un lado una menor biomasa que lo que cabría esperar según la concentración en pigmentos (FO y OL), y la relación contraria en PL, FL, CL y CR. De esta forma se puede explicar que no necesariamente una menor concentración de pigmentos implica menor desarrollo de biomasa y producción aérea y viceversa, si bien los motivos pueden ser diversos.

Un exceso de nitrógeno en el suelo, si bien favorece la producción de pigmentos fotosintéticos (*Hassan et al., 2009*), podría explicar que una elevada concentración de pigmentos no se traduzca en un desarrollo comparable de la parte aérea de una planta. La relación entre la concentración de pigmentos fotosintéticos y el valor SPAD permite observar este hecho (figura 33).

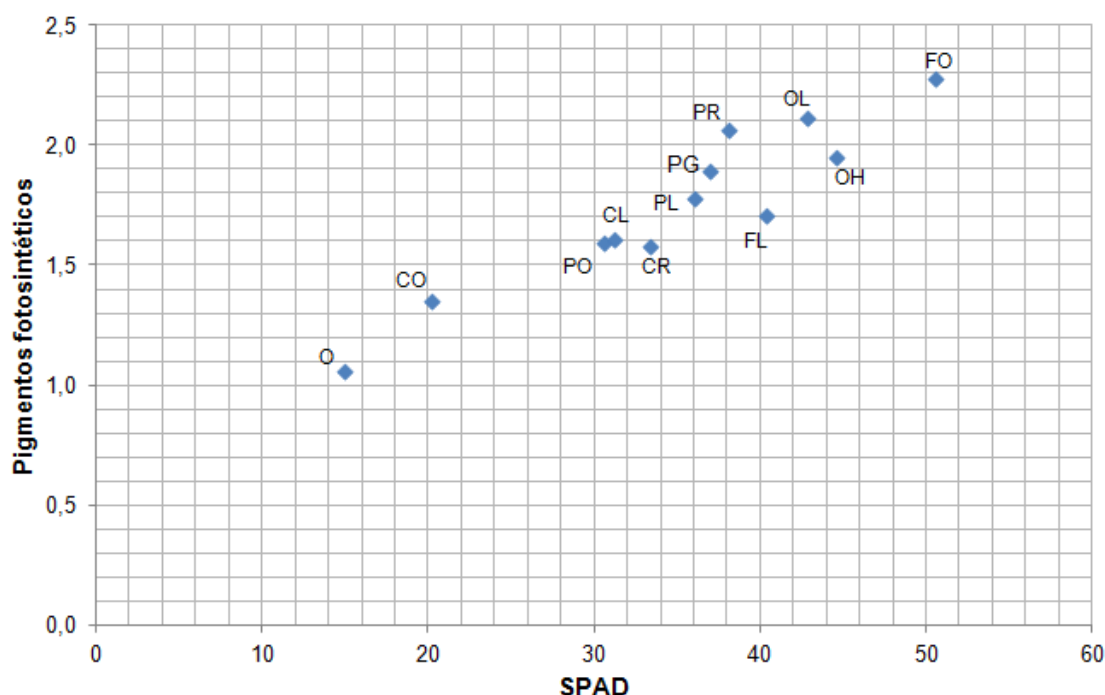


Figura 33. Relación ($R^2=0,89$) entre el valor SPAD y la concentración (mg/g PF) de pigmentos fotosintéticos (clorofilas a, b y carotenos) al finalizar el bioensayo en las plantas de cebada cultivadas en macetas llenas de un suelo tratado con varios tipos de biochar o sus respectivas materias primas.

Se comprueba que existe una relación lineal ($R^2=0,89$) entre el valor SPAD medido sobre las plantas y la concentración de pigmentos calculada. La serie ascendente que se muestra en la figura, permite observar lo comentado en cuanto a las diferencias de concentración en pigmentos entre los biochar de pino y los de chopo. Como se ha comentado, en el caso de FO, la elevada concentración de pigmentos no se ha traducido en un desarrollo comparable de la biomasa. Este hecho se visualiza en la figura 33, en la cual el tratamiento FO presenta el mayor valor de la relación. Esto se debe a que el valor SPAD, que es el valor de la absorbancia medida sobre las hojas tras la emisión de un haz de luz de longitud de onda entre 600 y 700 nm, no solamente indica la concentración de pigmentos (clorofila a y b) en las mismas, sino que también se relaciona con la concentración de nitrógeno en la planta (Swain *et al.*, 2010), por lo que a su vez indica la concentración de nitrógeno en el suelo disponible para las mismas. El valor SPAD en FO se puede relacionar con la concentración de nitrógeno en este tratamiento (*ver apartado concentración de cationes y aniones solubles*). Existen estudios (Van der Eerden & Perez-Soba 1992, Xiaoli *et al.*, 2012) que sugieren que un exceso de nitrógeno en el suelo ocasiona un menor desarrollo y producción de la parte aérea, ya que se produce un menor desarrollo de las raíces y actividad de las mismas, así como cambios en la relación shoot/root que provocan una menor capacidad de absorción de nutrientes y un desequilibrio de los mismos. Estos últimos aspectos coinciden con lo discutido en el apartado de biomasa radicular del

presente trabajo (*ver apartado sistema radicular*) y podría ser la explicación de la ineficiencia de la elevada concentración de pigmentos en el caso de FO. Este efecto no se observa en el lodo pirolizado (FL), el cual presenta mayor producción aérea que lo que cabría esperar según la concentración de pigmentos (figura 32), si bien muestra un elevado valor SPAD (figura 33) que sobreestima la concentración de pigmentos por el mayor contenido en nitrógeno de este material en comparación con el resto de tratamientos (*ver concentración de nitratos en concentración de cationes y aniones solubles*).

Por otra parte, también es destacable el caso de los tratamientos control fertilizados (OH y OL). Su elevada concentración de pigmentos (figura 31) también sugiere una mayor concentración de nitrógeno en las plantas (figura 33), sobre todo OH, que junto con FO fueron tratamientos cuyas plantas a menudo presentaban un aspecto azulado, indicativo de una elevada concentración de nitrógeno, y que por tanto su valor SPAD sobreestima la concentración de pigmentos (lo cual se demuestra con la ligera diferencia de concentración de pigmentos entre OL y OH). En el caso de OL cabría haber esperado una mayor producción de biomasa aérea (figura 32). Los resultados sugieren que en este caso, el nitrógeno del suelo genera un desarrollo de las plantas que causa un desequilibrio en la nutrición de las mismas o una posible competencia entre nutrientes, lo cual no se observa en OH por su mayor régimen de fertilización, ni tampoco en los tratamientos con biochar, especialmente en aquellos que presentan mayor producción de biomasa aérea como los tratamientos con biochar de pirólisis lenta (PL, CL y FL), que quizás retienen algún microelemento también importante para el desarrollo de las plantas (figura 32).

El menor contenido de pigmentos al finalizar el bioensayo en el tratamiento control (O) seguido de las maderas sin pirolizar sugiere limitaciones de nutrientes, especialmente de nitrógeno.

5.3.6. Estrés fotosintético

La tabla 22 muestra los valores de estrés fotosintético de las plantas del cultivo de *Hordeum vulgare* en ambos muestreos destructivos.

Tabla 22. Valores (media \pm desviación estándar) del rendimiento cuántico máximo del PSII (Fv/Fm), de plantas de cebada cultivadas en macetas llenas de un suelo tratado con varios tipos de biochar o sus respectivas materias primas, en el muestreo 1 (42 días) y muestreo 2 (70 días). Véase códigos de los tratamientos en tabla 7.

Tratamiento	Fv / Fm	
	Muestreo 1	Muestreo 2
OH	0,78 \pm 0,02	0,77 \pm 0,01
OL	0,79 \pm 0,01	0,76 \pm 0,09
O	0,76 \pm 0,01	0,65 \pm 0,10
PO	0,78 \pm 0,03	0,73 \pm 0,04
PG	0,76 \pm 0,05	0,76 \pm 0,01
PL	0,79 \pm 0,01	0,75 \pm 0,03
PR	0,79 \pm 0,01	0,75 \pm 0,01
CO	0,78 \pm 0,01	0,73 \pm 0,03
CL	0,78 \pm 0,02	0,75 \pm 0,02
CR	0,79 \pm 0,01	0,73 \pm 0,02
FO	0,77 \pm 0,04	0,77 \pm 0,01
FL	0,78 \pm 0,03	0,75 \pm 0,02

Los tratamientos contienen una dosis media de fertilizante mineral equivalente a la del tratamiento OL (OH, control con dosis doble de fertilizante mineral). Mediciones realizadas con un fluorímetro (Teaching-PAM; PAM-210).

El fluorímetro mide la emisión de fluorescencia que emiten los cloroplastos de una muestra vegetal, previamente sometida a condiciones de oscuridad, cuando se le dirige un *flash* saturante de 8000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. El rendimiento cuántico máximo del fotosistema II se mide por la relación Fv/Fm, que resulta de la ecuación $(F_m - F_o)/F_m$ donde Fm representa el valor máximo de fluorescencia, y Fo es el valor base de fluorescencia (Fracheboud, 2000). La medida de la fluorescencia en la clorofila es indicativa del estrés ambiental-abiótico debido a las condiciones del suelo, existencia de patógenos, etc. Cuando un haz de luz llega a una hoja pueden suceder dos hechos; el primero, se produce una disipación de energía vía fotoquímica que no es otra cosa que el inicio de la fotosíntesis mediante la cadena de transporte de electrones; el segundo que puede producirse es una disipación de energía por un proceso no fotoquímico que es la emisión de calor (emisión de energía en el infrarrojo) y de fluorescencia clorofílica (emisión de energía en el rojo lejano, radiación roja). Ambos procesos están compensados, si la emisión de energía por el proceso fotoquímico disminuye (caso de una hoja en oscuridad), la debida al proceso no fotoquímico aumenta para evitar la creación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y otros radicales libres que pueden dañar la estructura celular. Ante condiciones de estrés, en el segundo proceso se ven afectadas las moléculas clorofílicas del fotosistema II (PSII), las cuales emiten aproximadamente un 95% de la señal de fluorescencia clorofílica.

Valores de la relación Fv/Fm menores a 0,8 indican la existencia de un estrés fotosintético (*Fracheboud, 2000*). Como se puede observar, los valores son ligeramente inferiores a 0,8, si bien el tratamiento control (O) es el que muestra los valores menores en ambos muestreos. Los valores del segundo muestreo son inferiores a los del primero debido al mayor agostamiento de las plantas, siendo PO y CO valores ligeramente inferiores al resto. Por consiguiente, se puede decir que en función a estos resultados, no se observa que las plantas hayan tenido algún tipo de estrés específico que pudiese estar relacionado con la adición de alguna de las enmiendas empleadas en el ensayo o bien con cualquier otro factor ambiental, ya que los valores son cercanos a 0,8. Los resultados son indicativos del estado de desarrollo del cultivo.

Estos valores se explican según el desarrollo de las plantas (*ver apartado evolución hídrica*) y se pueden relacionar también, según lo explicado en el apartado anterior, con la concentración de pigmentos fotosintéticos (figura 31), ya que es de esperar que una planta sometida a algún tipo de estrés ambiental, edáfico, etc., no produzca tantos pigmentos fotosintéticos comparada con una planta existente en un ambiente que no cause estrés sobre la misma. En la relación que muestra la figura 34 la serie sería O, CO, PO, CL, FL, PL, PG, PR, OH, OL y FO, la cual es muy parecida a la representada en la figura 33.

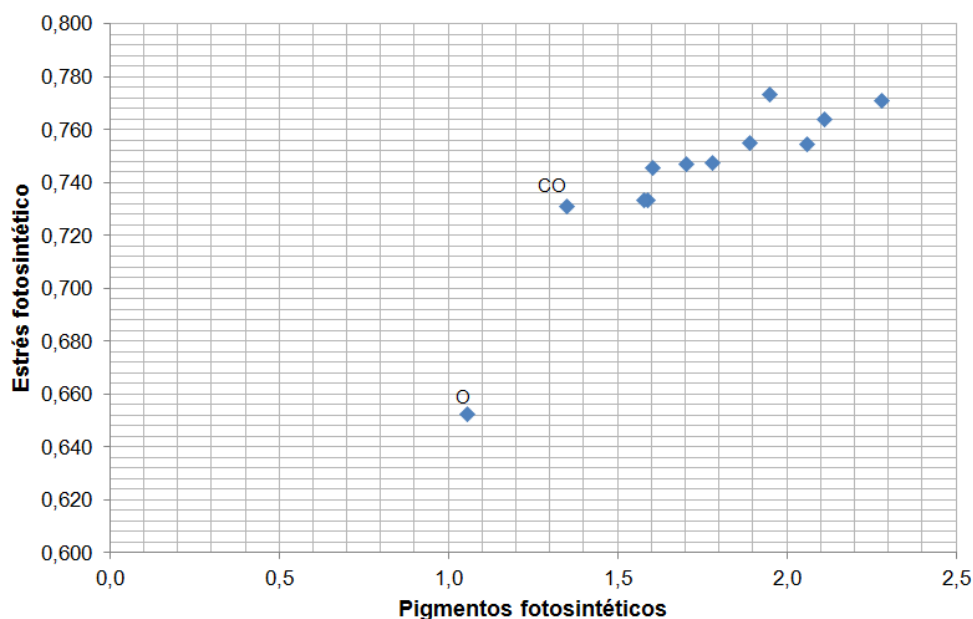


Figura 34. Relación ($R^2=0,77$) entre estrés fotosintético (Fv/Fm) y concentración (mg/g PF) de pigmentos fotosintéticos (clorofilas a, b y carotenos) al finalizar el bioensayo de las plantas de cebada cultivadas en macetas llenas de un suelo tratado con varios tipos de biochar o sus respectivas materias primas.

5.4. Discusión general

Los efectos observados se pueden explicar por la contribución de diferentes factores que incluyen: la composición de las materias primas, las características del biochar (que a su vez dependen del tipo de pirólisis), el fertilizante aplicado, el efecto enmienda de la materia orgánica, y los cambios producidos en el suelo por el propio crecimiento de las plantas.

Conviene resaltar que no se han encontrado efectos depresores o “negativos” importantes debidos a la aplicación de los distintos tipos de biochar. Por otro lado, se han observado respuestas en las plantas similares a las producidas por el fertilizante mineral. Algunos de los efectos eran de esperar atendiendo al comportamiento genérico del biochar como enmienda orgánica, otros en cambio, se explican en función a las diferentes características de cada tipo de biochar.

El tipo de pirólisis usado implica la producción de biochar con diferentes características físicas y químicas, siendo la granulometría y la estructura interna de las partículas aspectos relevantes. La temperatura y el tiempo de residencia de la materia prima en el proceso de pirólisis, se han discutido como los parámetros más importantes que determinan las diferentes características del biochar resultante. Entre otros resultados, se obtienen biochar con distinto grado de oxidabilidad, y por lo tanto, difieren en la recalcitrancia de la materia orgánica y estabilidad en los suelos donde son aplicados. Este hecho no únicamente es interesante por los efectos que pueda tener sobre el suelo, como por ejemplo en la concentración de sales libres o la biota del mismo, sino también bajo el contexto de almacenamiento de carbono. En este sentido han destacado las diferencias en el comportamiento de las mezclas de suelo con biochar producido por pirólisis lenta, frente a los obtenidos a partir de la pirólisis rápida o la gasificación.

Los biochar de pirólisis lenta también han destacado por una mayor concentración de pigmentos fotosintéticos y producción de biomasa aérea de las plantas crecidas en estos tratamientos de suelo.

También se puede resaltar el comportamiento del único biochar procedente de gasificación utilizado en el ensayo, que difiere de los biochar producidos por pirólisis lenta y rápida. La granulometría de este tipo de biochar es diferente a la de los otros materiales pirogénicos, ya que está formado por partículas más pequeñas y con mayor proporción de cenizas, además de tener una composición química más condensada (relación H:C menor).

Podría ser interesante en un futuro profundizar acerca de la importancia de la granulometría y la estructura interna (tipo de conformación del carbono) de los distintos tipos de biochar.

Por otra parte, también han sido destacables algunos efectos diferenciales entre la aplicación de los diversos biochar y sus materias primas, especialmente en el crecimiento de las plantas, que ha sido mayor tras la aplicación de los materiales pirogénicos. En los efectos sobre el suelo se han discutido por ejemplo las diferencias en la capacidad máxima de retención de agua, y la ocurrencia del fenómeno denominado como “hambre de nitrógeno” en las astillas de pino y chopo.

La composición de las materias primas ha permitido explicar algunas diferencias observadas tras la aplicación de las mismas, como por ejemplo en el carbono orgánico oxidable. Dejando al margen el caso de los lodos de depuradora (que se comenta más adelante), se han apreciado diferencias en los efectos sobre el suelo y desarrollo de las plantas entre la aplicación de las astillas de pino y chopo. En este sentido, el comportamiento de las mezclas de suelo y astillas de chopo ha sido muy similar a lo observado en el tratamiento control (O), destacando el menor crecimiento de las plantas y la ocurrencia de lixiviados. Por el contrario, la aplicación de astillas de pino ha sido algo más favorable para el desarrollo de la cebada.

Teniendo en cuenta lo anterior, se puede entender la importancia de la pirólisis de ambos tipos de astillas ya que permite eliminar los efectos depresores de la aplicación de las mismas, especialmente en el caso de las astillas de chopo. Cuando se comparan los biochar, disminuye la importancia de las características de la materia prima, y son más relevantes las diferencias debido al tipo de pirólisis. Es probable que la realización de un bioensayo que permitiese obtener una cosecha final real permitiera observar la existencia de posibles diferencias entre estos tipos de biochar.

La aplicación de lodos de depuradora y el respectivo biochar obtenido por pirólisis lenta ha sido más discutida por los efectos producidos sobre el suelo y plantas, debido a las diferencias en cuanto a la caracterización y composición del material original, que en el caso de las astillas de pino y chopo. No se entra a valorar la importancia de los efectos sobre el suelo y plantas de los lodos de depuradora, ya que no es objetivo del presente trabajo, pero sí son destacables las diferencias en los efectos analizados tras la aplicación del material pirolizado, comparado con la aplicación de la enmienda orgánica sin pirolizar. En este sentido, se han discutido las diferencias encontradas en los siguientes apartados: densidad aparente, pH, conductividad, concentración de cationes y aniones solubles, carbono orgánico oxidable, biomasa aérea, biomasa radicular, *root/shoot* y pigmentos fotosintéticos. Las características

fisicoquímicas ya conocidas de los lodos de depuradora, que difieren de la composición del material pirolizado, explican la mayoría de los efectos encontrados. Son importantes las diferencias en los resultados de biomasa radicular, y en pigmentos fotosintéticos. En ambos apartados, FO muestra un claro efecto inhibidor o tóxico, que no se produce en la mezcla de suelo y lodo pirolizado. Este efecto depresor se ha visto que podría tener relación con la elevada concentración de nitrógeno presente en los lodos de depuradora y que no existe en FL. El comportamiento de FL (que podría ser más apto como enmienda para el suelo) frente a FO, se ha discutido que tendría su origen en la importante volatilización de compuestos nitrogenados que se produce en el proceso de pirólisis. En comparación con los otros tipos de biochar, principalmente con los de pirólisis lenta, sí existen diferencias significativas en los efectos analizados (principalmente en los efectos sobre el suelo), lo cual ha permitido observar la importancia de las características de la materia prima para la producción de biochar.

La fertilización mineral aplicada al cultivo ha permitido explicar varios de los efectos encontrados, como por ejemplo sobre el pH. Por otra parte, es interesante destacar los apartados de biomasa aérea y de pigmentos fotosintéticos, en los que se discute el hecho de un mayor desarrollo de las plantas crecidas en suelos que contienen biochar, en comparación con la enmienda única de la fertilización mineral, sobretodo en los biochar de pirólisis lenta.

En todos los resultados de los cuales se ha hecho un estudio estadístico, el tratamiento con la mitad de fertilizante mineral ha sido el control usado para comparar los efectos con las diferentes enmiendas orgánicas. La tabla 23 muestra un resumen de las diferencias significativas que se deducen de los tratamientos estadísticos. En lo referente al estudio del biochar, algunas de las diferencias significativas eran de esperar por el efecto como enmienda orgánica y también por el aporte de una dosis conocida de carbono orgánico. Otras diferencias han sido analizadas y discutidas en función de las características de los distintos tipos de biochar y enmiendas, pero sin concluir si es o no favorable para el suelo o la producción de las plantas.

Tabla 23. Cuadro resumen de los principales efectos de las aplicaciones de distintos tipos de biochar sobre el suelo y las plantas de cebada. Diferencias significativas respecto al control con una dosis media de fertilizante mineral (tratamiento OL). Véase códigos de los tratamientos en tabla 7.

PARÁMETRO	DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS RESPECTO AL CONTROL (OL)								
	PO	PG	PL	PR	CO	CL	CR	FO	FL
Densidad aparente	SI menor	SI menor	SI menor	SI menor	SI menor	SI menor	SI menor	SI menor	SI menor
Capacidad de retención de agua	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI mayor
pH	SI neutro	SI-b	SI-b<	SI-b<	SI-b<	SI-a<	SI-a<	SI-a>	SI-a
Conductividad	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI mayor	SI mayor
Carbono oxidable (%)	SI mayor	SI mayor	¹ SI mayor	SI mayor	SI mayor	¹ SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI mayor
Calcinación (550°)	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI mayor
Longitud 1ª hoja	SI mayor	SI mayor	SI mayor	NO	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI menor	NO
PS plantas aclareadas	SI mayor	SI mayor	SI mayor	NO	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI menor	NO
Biomasa aérea	NO	NO	SI mayor	NO	SI menor	SI mayor	SI mayor	² SI menor	SI mayor
PS espiga	NO	NO	NO	NO	SI mayor	SI mayor	SI mayor	SI mayor	NO
Biomasa radicular	SI menor	NO	NO	³ SI mayor	NO	NO	NO	SI menor	NO
Root/shoot	SI menor	NO	NO	⁴ SI menor	⁵ SI mayor	NO	NO	SI menor	NO
Pigmentos	SI menor	NO	SI menor	NO	SI menor	SI menor	SI menor	SI mayor	NO

En pH: a, significa acidificación y b, basificación. >, significa mayor y <, menor. ¹ En PL y CL las diferencias se refieren al muestreo 2 únicamente. ² En FO se refiere al muestreo 1 únicamente. En PR: ³ se refiere al muestreo 1 únicamente y ⁴ se refiere al muestreo 2, aunque el valor del primer muestreo era significativamente mayor. ⁵ En CO se refiere al muestreo 1.

5.5. Valoración personal y perspectivas de futuro

Como ambientólogo, considero que este trabajo precisa de una valoración objetiva de todo lo estudiado si nos referimos a la posibilidad de producción y aplicación de biochar en suelos. El sector de la producción de biochar parece ir en aumento, y están surgiendo empresas que producen y patentan técnicas de pirólisis de biomasa en países como EEUU, Reino Unido o Nueva Zelanda y es en Sudamérica donde la producción de biochar está más avanzada. Por lo tanto, antes de que el sector crezca más, es necesario disponer de estudios que avalen su aplicabilidad al suelo.

Al realizar un análisis del sector, he podido comprobar que existen multitud de cuestiones sometidas a discusión: cantidad de carbono que podría quedar almacenado en el suelo, reducción de emisiones de CO₂ equivalentes, necesidad de hectáreas de suelo para la obtención de biomasa y origen de la misma, producción a escala local, producción a gran escala en mercados de oferta y demanda, efectos sobre suelo y plantas etc., que al final y en un resumen simplista llevan a la cuestión de posicionarse, es decir, biochar sí o biochar no.

A mi parecer, la cuestión no es tan sencilla como para posicionarse a favor o en contra del biochar. Se deberían de separar dos campos distintos cuando hablamos de biochar, que incluirían el estudio científico del material y de sus efectos, y por otro lado, el sector industrial interesado en su producción.

Desde el punto de vista científico, considero que el biochar tiene posibilidades reales de aplicación en suelos. Por un lado, es cierto que mediante su uso almacenamos en el suelo el resultado de la fotosíntesis realizado por la vegetación en lo que a carbono se refiere, y por otro lado, también es cierto que en general permite mejorar la fertilidad de los suelos. Ahora bien, sería necesario seguir investigando los efectos sobre distintos ecosistemas edáficos tras su aplicación, analizando cuestiones como la estabilidad del carbono en el suelo o el efecto sobre la biota del mismo, y no solamente justificar su aplicación considerando el ejemplo de los suelos tropicales de la *terra preta*, para los cuales fueron necesarios miles de años de manejo del suelo por las poblaciones indígenas locales para conseguirlo. El biochar debería de ser una herramienta más dentro del conjunto de enmiendas orgánicas para suelos, dejando de lado la visión que lo considera como la panacea frente al cambio climático y para la producción de alimentos.

En este sentido, la producción de biochar, al igual que otras técnicas de geoingeniería, no pueden ser la solución para compensar las emisiones actuales de gases de efecto invernadero a la atmósfera. Deberían ser usadas

para contrarrestar dichas emisiones, dentro de un modelo a escala global que considere en todas las actividades los modelos de sostenibilidad reales. Si se prima su producción (especialmente) para contrarrestar los efectos del cambio climático, se podrían producir de forma directa *outputs* negativos para el medio ambiente.

Desde el punto de vista de la producción, creo que es interesante el uso de técnicas de pirólisis de biomasa vegetal o animal a nivel local. Entiendo por ámbito local, por ejemplo, el uso que le pueda dar un agricultor al biochar de la misma forma que utiliza fertilizantes. También sería interesante la utilización agrícola o para la restauración de zonas con suelos degradados de biochar obtenido de otras actividades, como las centrales de biomasa. El objetivo podría ser el uso del biochar en una zona determinada apoyado por el estudio científico de que va a tener unos efectos positivos sobre la calidad del suelo, y por tanto una repercusión favorable para la actividad económica primaria de la zona. El principal desembolso de dinero vendría por la compra de la maquinaria de pirólisis, o bien por su acopio en un mercado de producción local. Por otro lado, se obtendrían beneficios por la reducción de necesidad de fertilizantes. También es cierto que el proceso parece bastante sostenible, ya que permite la obtención de biocombustibles de calidad, así como biogas que puede utilizarse para retroalimentar el proceso calorífico y para el consumo eléctrico.

La producción y aplicación a escala global, como por ejemplo la que se hace con los fertilizantes, es más discutible por la incertidumbre del proceso (mercados globales) y por los beneficios ambientales que podrían obtenerse. Más aún, se produce el hecho de la posible existencia de beneficios a corto plazo que buscarían la ganancia económica antes que el beneficio ambiental. Es por ello que la aplicación del biochar debería pensarse en uso local a corto plazo, y bajo consideraciones ambientales a largo plazo.

Bajo mi punto de vista, la técnica de pirólisis que recomendaría sería la lenta, que además es la que permite obtener mayor proporción de biochar en el proceso, y también un material más estable atendiendo a su capacidad para almacenamiento de carbono. Según he podido comprobar, y de cara a la posible utilización de residuos animales para la producción de biochar (purines, gallinaza, etc.), recomendaría como materia prima para producir biochar los restos de biomasa vegetal antes que los lodos de depuradora. Aunque los resultados obtenidos sugieren que la pirólisis ayuda a disminuir el efecto tóxico que pueda tener los lodos EDAR con alto contenido en nitrógeno inicial, son necesarios más estudios antes de proponer la pirólisis de los mismos.

En este sentido, sería interesante continuar con líneas de investigación similares a las del presente proyecto. Por ejemplo, se podría profundizar en el estudio de la formación de micorrizas, así como en los efectos sobre la biota en

general. Por otra parte, también resultaría interesante estudiar la estabilidad de la materia orgánica de los suelos enmendados con diferentes tipos de biochar a largo plazo, y su relación con la biota del suelo. Por último, en la línea de la reducción de uso de fertilizantes o aumento de su eficacia mediante la aplicación de biochar, se podría comprobar hasta que concentración puede reducirse la cantidad de fertilizante mineral a usar en un cultivo y suelo determinado.

6. CONCLUSIONES

6.1. Efectos sobre el suelo

- La aplicación de los distintos biochar sobre el suelo clasificado como *Haploxerept típico* (en una dosis de 1% de carbono añadido) comporta un ligero efecto inicial alcalinizante. Las variaciones en el pH del suelo han sido menores en los que se ha añadido algún tipo de enmienda orgánica. El biochar que ha mostrado un comportamiento diferente al resto es el producido a partir del lodo de depuradora, que ha comportado una ligera acidificación del suelo.
- El efecto de enmienda orgánica que comporta la aplicación del biochar ha permitido observar una mejora de parámetros físicos del suelo relacionados con la producción de plantas. Como son: la densidad aparente y la capacidad de retención de agua.
- La aplicación de las diferentes enmiendas orgánicas de tipo biochar no ha comportado cambios destacables en la salinidad del suelo, a excepción del aumento significativo observado en el biochar de lodos de depuradora.
- La técnica de pirólisis condiciona el grado de oxidabilidad de la materia orgánica de los distintos tipos de biochar ensayados. Se ha comprobado que las mezclas de suelo y biochar producidos a partir de técnicas de pirólisis lenta son menos mineralizables que las mezclas de suelo y biochar producidos a partir de la pirólisis rápida o gasificación. Como se ha discutido, este hecho es importante para la estabilidad del carbono almacenado en el suelo.

6.2. Efectos del biochar frente a sus materias primas

- Los biochar ensayados han provocado unos efectos favorables en el suelo que han facilitado un mayor desarrollo de las plantas en comparación con la aplicación de sus respectivas materias primas. Ha sido relevante el caso de los lodos de depuradora cuyo biochar ha reducido los efectos negativos en el desarrollo de las plantas de cebada que sí se observan en la aplicación del lodo original.

- La transformación en biochar de la madera de chopo y pino ha permitido reducir los efectos depresores sobre el crecimiento de la cebada que se muestran en los respectivos materiales de partida.

6.3. Interacción biochar- fertilizante mineral

- La dosis baja de fertilizante mineral aplicado ha sido suficiente para el cultivo de cebada en las condiciones ensayadas.
- Con una dosis baja de fertilizante mineral y la incorporación de biochar producido a partir de pirólisis lenta y rápida se ha logrado un ligero aumento de la producción de biomasa del cultivo de cebada.
- Sin embargo, el efecto indirecto de la enmienda orgánica en forma de biochar sobre el desarrollo de las plantas ha sido menor que el efecto directo provocado por la fertilización mineral.

6.4. Efectos sobre plantas

- La adición de las distintas enmiendas en forma de biochar al suelo no conlleva efectos inhibidores en la germinación, crecimiento y producción de las plantas de *Hordeum vulgare*.
- La aplicación de los biochar procedentes de la pirólisis lenta ha comportado una ligera depresión en la concentración de pigmentos. Por el contrario, estos biochar han permitido obtener una mayor biomasa aérea, lo que sugiere que han contribuido a una mayor eficiencia en la nutrición de las plantas de cebada.
- El aporte de cualquier tipo de biochar no ha tenido como consecuencia un mayor desarrollo del sistema radicular de las plantas de cebada.

6.5. Micorrización

- ✓ La colonización de las raíces por hongos micorrícicos en todos los tratamientos han sido baja o inexistente, no habiéndose podido realizar un estudio comparativo. El estudio cualitativo realizado no ha permitido extraer conclusiones acerca de la colonización por micorrizas u otro tipo de hongos influida por la aplicación de biochar.

7. BIBLIOGRAFÍA

7.1. Artículos científicos

BASKIN, Y. (2006). "Slash-and-char improves Amazonian soil". *BioScience* 56, 368.

BLACKWELL, P., KRULL, E., BUTLER, G., HERBERT, A., SOLAIMAN, Z. (2010). "Effect of banded biochar on dryland wheat production and fertiliser use in south-western Australia: an agronomic and economic perspective". *Australian Journal of Soil Research* 48, 531-545.

BREWER, C.E., K. SCHMIDT-ROHR, J.A. SATRIO, AND R.C. BROWN. (2009). "Characterization of biochar from fast pyrolysis and gasification systems". *Environmental Progress and Sustainable Energy* 28: 386-396.

BRIDGEWATER, A.V. (2004). "Biomass fast pyrolysis". *Thermal Science* 8, 21-49.

CHENG, C., LEHMANN, J., THIES, J. E. & BURTON, S. D. (2008) "Stability of black carbon in soils across a climatic gradient ".*Geophys. Res.* 113 doi: 10.1029/2007JG000642.

DEMIRBAS, A. (2006). "Production and characterization of bio-chars from biomass via pyrolysis". *Energy sources Part a* 28, 413-422.

FASSINOU, W.F., L. VAN DE STEENEB, S., TOUREA, G. VOLLEB, AND P. GIRARD. (2009). "Pyrolysis of Pinus Pinaster in a Two-stage Gasifier: Influence of processing parameters and thermal cracking of tar¹". *Fuel processing technology* 90: 75-90

FOWLES, M. (2007). "Black carbon sequestration as an alternative to bioenergy". *Biomass and Bioenergy* 31, 426-432.

GAUNT, J.L., LEHMANN, J. (2008). "Energy balance and emissions associated with biochar sequestration and pyrolysis bioenergy production". *Environmental Science and Technology* 42, 4152-4158.

GASKIN, J.W., C. STEINER, K. HARRIS, K.C. DAS, AND B. BIBENS. (2008). "Effect of lowtemperature pyrolysis conditions on biochars for agricultural use". *Transactions of the ASABE* 51: 2061-2069.

GLASER B., BALASHOV E., HAUMAIER L., GUGGENBERGER G., ZECH W. (2000). "Black carbon in density fractions of anthropogenic soils of the Brazilian Amazon region". *Organic Geochemistry* 31:669-678.

GLASER, B., HAUMAIER, L., GUGGENBERGER, G. AND ZECH, W. (2001). "The Terra Preta phenomenon – A model for sustainable agriculture in the humid tropics". *Naturwissenschaften* 88, 37–41.

GLASER, B., LEHMANN, J., ZECH, W., (2002). "Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal- a review". *Biology and Fertility of Soils* 35, 219-230

HOSSAIN, M. K., V. STREZOV, K.Y. CHAN, A. ZIOLKOWSKI, AND P. F. NELSON. (2011). "Influence of pyrolysis temperature on production and nutrient properties of wastewater sludge biochar". *Journal of Environmental Management* 92: 223-228.

INDERJIT, CALLAWAY, R.M. (2003). "Experimental designs for the study of allelopathy". *Plant and Soil* 256, 1-11.

JOHNSON, JANE M.F, ALAN J. FRANZLUEBBERS, SHARON LACHNIGHT WEYERS, DONALD C. REICOSKY. (2007). "Agricultural opportunities to mitigate greenhouse gas emissions". *Environmental pollution* 150, 107-124.

KAMKE, F.A. (2006). "Densified radiata pine for structural composites". *Wood: Science and Technology* 8:83-92.

KARAYILDIRIM, T., A, J. YANIK, M. YUKSEL, AND H. BOCKHORN. (2006). "Characterisation of products from pyrolysis of waste sludges". *Fuel* 85: 1498–1508.

LEHMANN, J., DA SILVA, JR, J., STEINER, C., NEHLS, T, ZECH, W AND GLASER, B. (2003b). "Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments". *Plant and Soil*, vol 249, pp 343-357

LEHMANN, J., LIANG, B., SOLOMON, D., LEROTIC, M., LUIZAO, F., KINYANGI, F., SCHÄFER, T., WIRICK, S., JACOBSEN, C., (2005). "Near-edge X-ray absorption fine structure (NEXAFS) spectroscopy for mapping nano-scale distribution of organic carbon forms in soil: application to black carbon particles". *Global Biogeochemical Cycles* 19, GB1013.

LEHMANN, J., GAUNT, J. & RONDON, M. (2006). "Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems — a review". *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change* 11: 403–427

LEHMANN, J. (2007a). "Bio-energy in the black". *Frontiers in Ecology and the Environment* 5, 381-387.

LEHMANN, J. (2007b). "A handful of carbon". *Nature* 447, 143-144.

LEHMANN, JOHANNES. (2009). "Terra Preta de Indio", *Encyclopedia of Soil Science* 1:1, 1-4.

LEHMANN J., MATTHIAS C. RILLIG, JANICE THIES, CAROLINE A. MASIELLO, WILLIAM C. HOCKADAY, DAVID CROWLEY. (2011). "Biochar effects on soil biota- a review". *Soil Biology and Biochemistry* 43 (2011) 1812-1836.

LICHTENTHALER, HARMUT K., AND WELLBURN, ALAN R. (1983). "Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents": *Biochemical Society Transactions*, v. 11, p. 591- 592.

LÓPEZ URREA, R.; MONTORO RODRÍGUEZ, A.; LÓPEZ FUSTER, P. (2008). "Estudio de las necesidades hídricas de la cebada (*Hordeum vulgare* L.) cultivada en clima semiárido". *Tierras de Castilla y León. Agricultura* nº.149 Extra. p. 76-85.

MAKOTO, K., TAMAI, Y., KIM, Y.S., KOIKE, T. (2010). "Buried charcoal layer and ectomycorrhizae cooperatively promote the growth of *Larix gmelinii* seedlings". *Plant and Soil* 327, 143-152.

MC DOUGALL, J.S. (1991). "Afr. Inst. Min". *Metall.* 91, 4: 109-120.

MIAN SAYEED HASSAN, ABUL KHAIR, M. MOYNUL HAQUE ABUL KALAM AZAD AND ABDUL HAMID. (2009). "Genotypic variation in traditional rice varieties for chlorophyll content, SPAD values and nitrogen use efficiency" *J. Agril. Res.* 34(3): 505-515.

OKIMORI, Y., OGAWA, M., TAKAHASHI. F. (2003). "Potential of CO₂ emission reductions by carbonizing biomass waste from industrial tree plantation in south Sumatra, Indonesia". *Mitigation and adaptation strategies for global change* 8, 261-280.

SINGH B., SHAN Y.H., JOHNSON-BEEBOUT S.E., SINGH Y., BURESH R.J. (2008). "Crop residue management for lowland rice-based cropping systems in Asia". *Advances in Agronomy*, Vol 98. pp. 117-199.

STEINER, C., KESHAV, C.D., GARCIA, M., FORSTER, B., ZECH, W. (2008). "Charcoal and smoke extract stimulate the soil microbial community in a highly weathered xanthic Ferralsol". *Pedobiologia* 51, 359-356.

SWAIN, D.K. AND S. JAGTAP SANDIP. (2010). "Development of SPAD Values of Medium and Long-duration Rice Variety for Site-specific Nitrogen Management". *Journal of agronomy* 9(2) p.38-44.

VAN DER EERDEN LJM, PEREZ-SOBA M. (1992). "Physiological responses of *Pinus sylvestris* to atmospheric ammonia". *Trees*, 6, 48–53.

WARNOCK, D.D., LEHMANN, J., KUYPER, T.W., RILLIG, M.C. (2007). "Mycorrhizal responses to biochar in soil- concepts and mechanisms". *Plant and Soil* 300, 9-20.

WILSON, J.B., (1988). "A review of the evidence on the control of shoot:root ratio in relation to models". *Annals of Botany* 61, 433-449.

WOOLF, D., JAMES E., AMONETTE, F., ALAYNE STREET-PERROTT, JOHANNES LEHMANN Y STEPHEN JOSEPH. (2010). "Sustainable biochar to mitigate global climate change". *Natural communications* 1, art.56.

XIAOLI CHEN, PUTE WU, XINING ZHAO & SHIQING LI. (2012). "Effects of atmospheric ammonia enrichment and nitrogen status on the growth of maize". *Soil Science and Plant Nutrition*, 58:1, 32-40

ZHANG A., CUI L., PAN G., LI L., HUSSAIN Q., ZHANG X., ZHENG J., CROWLEY D. (2010a) "Effect of biochar amendment on yield and methane and nitrous oxide emissions from a rice paddy from Tai Lake plain, China". *Agriculture, Ecosystems and Environment* 139:469-475.

7.2. Libros

LEHMANN, JOHANNES AND JOSEPH S. (2009) *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*. Ed Earthscan, London, UK, 404 p.

MAZOYER, M. Et ROUDARD, L. (1998). *Historie des agricultures du monde: du Néolithique à la crise contemporaine*. Ed Seuil; París. 529p.

PETERSEN, J. B., NEVES, E. AND HECKENBERGER, M. J.(2001). "Gift from the past: Terra Preta and prehistoric Amerindian occupation in Amazonia". En C. McEwan, C. Barreto and E. Neves (eds) *Unknown Amazonia*, British Museum Press, London, UK, pp86-105.

STEINER, C., GRACIA, M., ZECH, W. (2009). "Effects of charcoal as slow release nutrient carrier on N-P-K dynamics and soil microbial population: pot experiments with ferralsol substrate". En: Woods, W.I., Teixeira, W.G., Lehmann, J., Steiner, C., WinklerPrins, A.M.G.A., Rebellato, L. (Eds.), *Amazonian Dark Earths: Wim Sombroek's Vision*. Springer, Berlin, pp. 325-338.

7.3. Otros documentos

AHUJA, P., P.C. SINGH, S.N. UPADHYAY, AND S. KUMAR. (1996). *Indian Journal Chemical Technology*, 3:306–12.

CHAN, K.Y., XU, Z., (2009). "Biochar: nutrient properties and their enhancement". En: Lehmann, J., Joseph, S. (Eds.), *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*. Earthscan, London, pp. 67-84.

DOWNIE, A., CROSKY, A., MUNROE, P. (2009). "Physical properties of biochar". En: Lehmann, J., Joseph, S. (Eds.), *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*. Earthscan, London, pp. 13-32.

DUGAN, E., VERHOEF, A., ROBINSON, S., SOHI, S. (2010). "Biochar from sawdust, maize stover and charcoal: Impact on water holding capacities of three soils from Ghana". 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World.

<http://www.iuss.org/19th%20WCSS/Symposium/pdf/1158.pdf>

DUGAN, E., VERHOEF, A., ROBINSON, S., SOHI, S. (2011). "The effect of Biochar and Stover Amendment on Soil Physical Environment and Plant Growth". 3rd Annual UK Biochar Conference.

<http://xweb.geos.ed.ac.uk/carbcap/biocharconference2011gallery/dugan.pdf>

FRACHEBOUD, YVAN. (2000). "Using Chlorophyll Fluorescence to Study Photosynthesis".

http://pdc_archive.hci.edu.sg/2006/webreports/cat1/ER34/flex.pdf

GARCÍA- PEREZ M., T.LEWIS, C. E. KRUGER. (2010). "Methods for Producing Biochar and Advanced Biofuels in Washington State". Part 1: Literature Review of Pyrolysis Reactors. First Project Report. Department of Biological Systems Engineering and the Center for Sustaining Agriculture and Natural Resources, Washington State University, Pullman, WA, 137 pp.

GONZÁLEZ RODRIGUEZ, A. (2001). "Estudio de caracteres fenológicos, agronómicos, morfológicos y fisiológicos en relación con la tolerancia al estrés hídrico en cebada". Memoria para optar al grado de Doctor, Universidad Complutense de Madrid.

IPCC. INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE'S FOURTH ASSESSMENT REPORT (AR4) BY WORKING GROUP 1 (WG1), CHAPTER 2 (2007b): "Changes in Atmospheric Constituents and in Radiative Forcing which contains information on global warming potential (GWP) of greenhouse gases".

KRISTIINA, K., TUOMAS, M., IRINA, B., KRISTIINA, R (2011). "Biochar addition to agricultural soil increased CH₄ uptake and water holding capacity- Results from a short- term pilot field study. Agriculture, Ecosystems & Environment.

<http://www.biochar-international.org/biblio/author/1344>

KRULL, E.S., SKJEMSTAD, J.O., BALDOCK, J.A. (2004). "Functions of soil organic matter and the effect on soil properties". En: Grain Research and Development Corporation, pp. 129.

<http://grdc.com.au/uploads/documents/cso000291.pdf>

LEHMANN J., DA SILVA J.P.Jr., RONDON M., DA SILVA C.M., GREENWOOD J., NEHLS T., STEINER C. AND GLASER, B. (2002). "Slash- and- char: a feasible alternative for soil fertility management in the central Amazon?" 17th WCSS, 14-21 Agosto 2002, Tailandia. Symposium n°13, p449.

LEHMANN, J., KERN, D. C., GLASER, B, AND WOODS, W. I. (2003a). "Amazonian Dark Earths Origin, Properties, Management". Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 523p.

LÓPEZ, CORCÓLES, F.J., CAÑADAS, W. (2000). "Ensayos de cebada, trigo, maíz". Memoria ITAP 2000, ensayos de cereales.
<http://www.itap.es/ITAPPublicaciones/4Publicaciones/Documentos/OtrasPublicaciones/07.Ensayos%20de%20cebada,trigo,maiz.pdf>

MAJOR, JULIE Ph.D (2010). "Biochar for soil quality improvement, climate change mitigations and more", a literature review.

MAJOR, JULIE Ph.D "Biochar: a new soil management tool for farmers and gardeners (web del IBI). Apalachian sustainable development

Orientaciones varietales para las siembras de cereales en Aragón. Resultados de los ensayos, cosecha de 2011. Informaciones técnicas nº 230 (2011). Dirección General de Desarrollo Rural, Centro de Transferencia Agroalimentaria.

RAMANKUTTY, N., EVAN, A.T., MONFRED, C., FOLEY, J.A. (2008). "Farming the planet: 1. Geographic distribution of global agricultural lands in the year 2000". Global Biogeochemical Cycles 22.

RONDON M., RAMIREZ J., LEHMANN J. (2005). "Greenhouse Gas Emissions Decrease with Charcoal Additions to Tropical Soils". Third USDA Symposium on Greenhouse Gases and Carbon Sequestration in Agriculture and Forestry, Baltimore, MD USA.

SÁENZ M., DIEGO ALBERTO. (2010). "Caracterización fisicoquímica de biochar en función de su origen y proceso pirogénico". Máster oficial en Estudios Ambientales, especialidades: cambio climático y global.

SAN JOSÉ, H. L., DE TORRES, V. J. (2008). "Estudio de la viabilidad del cultivo de la cebada en Castilla y León como materia prima para la obtención de bioetanol y del impacto socioeconómico en el entorno de una planta de producción".
http://www.eis.uva.es/energias-renovables/trabajos_07/Cebada-bioetanol.pdf

SHIE J-L, C.Y. CHANG, J.P. LIN, C.H. WU, AND D.J. LEE. J. (2000). Chem. Technol. Biotechnol. 75: 443–50.

SMITH, N.J.H. (1999). "The Amazon River forest: a natural history of plants, animals and people". Oxford University Press, New York.

SOHI, S. LOEZ-CAPEL, E., KRULL, E., BOL, R. (2009). "Biochar's roles in soil and climate change: A review of research needs". *CSIRO* Land and Water Science Report 05/09, 64pp.

VAN ZWIETEN L., SINGH B., JOSEPH S., KIMBER S., COWIE A., CHAN Y. (2009). "Biochar and Emissions of Non-CO2 Greenhouse Gases from Soil" (Capítulo 13), en: J. Lehmann and S. Joseph (Eds.), Biochar for Environmental Management: Science and Technology, Earthscan, London, UK. pp.227.

7.4. Páginas web

International Energy Agency: www.iea.org

Coeficientes de cultivo (kc): <http://www.gatfertilizantes.com/kc.swf>

IBI: www.biochar-international.org/

Información diversa acerca del biochar: www.biocharprotocol.com, www.biocharfund.org, www.biochar.org/joomla/

Vídeo de la cadena BBC, *The secret of El Dorado* (BBC Documentary, 2002): http://www.biochar.org/joomla/index.php?option=com_content&task=view&id=70&Itemid=25

Efectos del exceso de nitrógeno en plantas. <http://herkules.oulu.fi/isbn9514259114/html/x199.html>

Farming ahead magazine, nº211 (Agosto 2009): www.farmingahead.com.au

CSIRO: www.csiro.au

Información acerca de la cebada: www.infoagro.com

WIKIPEDIA www.wikipedia.es

ONG www.salvalaselva.org

Manifiesto de ONG's y grupos ecologistas en contra del biochar: "biochar: una nueva amenaza para los pueblos, la tierra y los ecosistemas. <http://www.wrm.org.uy/temas/Agrocombustibles/Biochar.pdf>

United States Department of Agriculture (Natural Resources Conservation Service): <http://soils.usda.gov/>

Keys to Soil Taxonomy, Eleventh Edition, 2010. United States Department of Agriculture (USDA):
ftp://ftpfc.sc.egov.usda.gov/NSSC/Soil_Taxonomy/keys/2010_Keys_to_Soil_Taxonomy.pdf

Estudio de la viabilidad del cultivo de la cebada en Castilla y León como materia prima para la obtención de bioetanol y del impacto socioeconómico en el entorno de una planta de producción (Luis Manuel San José Hernández, Jesús de Torres Villagrà).
http://www.eis.uva.es/energias-renovables/trabajos_07/Cebada-bioetanol.pdf

8. ACRÓNIMOS

ANOVA: Analysis of Variance

BP: *Before the Present*

CIC: Capacidad de Intercambio Catiónico

CREAF: Centre de Recerca Ecològica i Aplicacions Forestals

CSIRO: *Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation*

EDAR: Estación Depuradora de Aguas Residuales

ET: Evapotranspiración

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

GWP: Siglas en inglés del Potencial de Efecto Invernadero (*Global Warming Potential*)

IBI: *The International Biochar Initiative*

IPCC: *Intergovernmental Panel on Climate Change*

LOI: *Lost of Ignition* (pérdidas por calcinación)

MOT: Materia Orgánica Total

NPP: Siglas en inglés de la Productividad Primaria Neta (*Net Primary Productivity*)

PLSD: *Post-hoc paired comparisons*

PSII: Fotosistema II. En inglés *Water- plastoquinone oxidoreductase*

RAE: Real Academia Española

SOCARRAT: *Sequestering Organic CARbon, Recalcitrance And Toxicity*

SPAD: nombre que se refiere al valor que determina un medidor clorofílico comercial

SVT: Sólidos Volátiles Totales

UAB: Universitat Autònoma de Barcelona

UB: Universitat de Barcelona

UNFCCC: Siglas en inglés de la Convención Marco de las Naciones Unidas para el Cambio Climático (*United Nations Framework Convention on Climate Change*)

USDA: *United States Department of Agriculture*

WCSS: *The World Congress of Soil Science*

WHC: Siglas en inglés de la Capacidad de Retención de Agua (*Water Holding Capacity*)

9. PROGRAMACIÓN

Debido a que los objetivos del presente trabajo están relacionados con los planteados en un proyecto de estudio global del biochar (SOCARRAT), es necesario destacar el tiempo dedicado a plantear los fines del proyecto y la pregunta a resolver acerca del estudio de los efectos del biochar sobre suelo y plantas. De esta forma, previamente al montaje del bioensayo en el invernadero, es necesario comentar el tiempo dedicado a la planificación y organización del experimento, es decir, el trabajo intelectual y también el dedicado a recopilar y estudiar diferente documentación relacionada con los objetivos del proyecto, y con la aplicación y el estudio del biochar en general, que fue realizado durante los meses de marzo y abril de 2011.

Tareas que se realizaron durante este tiempo fueron:

- ✓ Acopio de los distintas materias orgánicas a emplear, así como los biochar.
- ✓ Caracterización de los materiales y ensayo de algunas de sus propiedades físicas.
- ✓ Elección de la especie vegetal, variedad y compra de semillas.
- ✓ Selección del suelo base, así como la compra de fertilizantes y búsqueda de información para realizar la mezcla y dosis de una fertilización típica de un cultivo de cebada.
- ✓ Gestión del material necesario y búsqueda de lugar para la realización del bioensayo.
- ✓ Planificación de las características del bioensayo: densidad de plantación, aclareos, dosis de carbono a añadir y cálculo de materiales, número de réplicas, cálculo y métodos de riego y muestreos destructivos.

La documentación acerca del tema de estudio se realizó mediante la lectura previa de diferentes artículos relacionados con el estudio del biochar, así como la asistencia a una conferencia divulgativa sobre el biochar realizada por Pilar Andrés en el CREAM.

A continuación, se muestra gráficamente la programación de tareas y tiempo dedicado a la realización del bioensayo:

Tabla 24. Programación de actividades realizadas durante el bioensayo con plantas de cebada en macetas con mezclas de suelo, biochar o materias primas.

abr-11	MAY.				JUN.	JUL.	OCT.	NOV.	DIC.	ENE.	FEB.	MZO.	ABR.	may-12
	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana										
Acondicionamiento de tiestos	Montaje bioensayo en invernadero: mezclas de suelo+enmienda+fertilizante	Siembra cebada	Evaluación de la germinación	Aclareo de la plantación	1er muestreo destructivo	2º muestreo destructivo	Cálculo pH y salinidad					Estudio de la concentración de sales minerales	Redacción de la memoria	
Acopio y tamizado de suelo base y secado en invernadero	Llenado y pesado de tiestos	Primer riego	Medición longitud de la 1ª hoja		Muestreo y preparación de raíces		Estudio micorrización							
Cribado de semillas							Cuantificación de pigmentos fotosintéticos							
Preparación del fertilizante mineral							Determinación del carbono orgánico oxidable							
Pesado de biochar y materias primas para las mezclas de suelo							Cálculo de sólidos volátiles totales							

Este trabajo ha sido impreso en papel libre de cloro